

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE **857** N°

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

Arturo RAVELO

Diplômé de l'École de Sérologie

Né le 22 Août 1906, à Saint-Domingue (Rép. Dominicaine)

SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA SENSIBILITÉ
ET DE LA SPÉCIFICITÉ DE DIFFÉRENTES RÉACTIONS
ACTUELLEMENT EMPLOYÉES

Président : M. GOUGEROT, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

Arturo RAVELO

Diplômé de l'École de Sérologie

Né le 22 Août 1906, à Saint-Domingue (Rép. Dominicaine)

SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA SENSIBILITÉ
ET DE LA SPÉCIFICITÉ DE DIFFÉRENTES RÉACTIONS
ACTUELLEMENT EMPLOYÉES

Président : M. GOUGEROT, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale.....	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie.....	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée.....	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale .	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	LEMIERRE.
Clinique chirurgicale.....	CUNÉO.
	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
Clinique d'accouchements.....	BRINDEAU.
	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	N...
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
	MULON.
Professeurs sans chaire	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BÉNARD (Henri) . Pathologie médicale.
 BERNARD Étienne. Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD..... Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER ... Pathologie médicale.
 DOGNON..... Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD..... Parasitologie.
 GASTINEL..... Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD..... Histologie.
 HAGUENAU Pathologie médicale.
 HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri) .. Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOUL ... Obstétrique.
 LAROCHE (Guy) . Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY..... Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI .. Neurologie et Psychiatrie.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET... Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING..... Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIÈVRE... Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHT Physiologie.
 SANNIÉ..... Chimie biologique.
 SÉNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.
 J. BEZANÇON... Hydrologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

LEROUX..... Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.



IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE ..		BROCQ.....	
AUBERTIN		CADENAT.....	
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL.....		HEITZ-BOYER ..	
CHIRAY		MOURE	
DONZELOT		QUENU.....	
DUVOIR.....		SCHWARTZ.....	
LIAN		VELTER	
PASTEUR - VALLERY - RADOT			
SÉZARY			
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale.		
GUÉNIOT			
LE LORIER.....			
LÉVY-SOLAL			
METZGER			

V. — CHARGÉS DE COURS

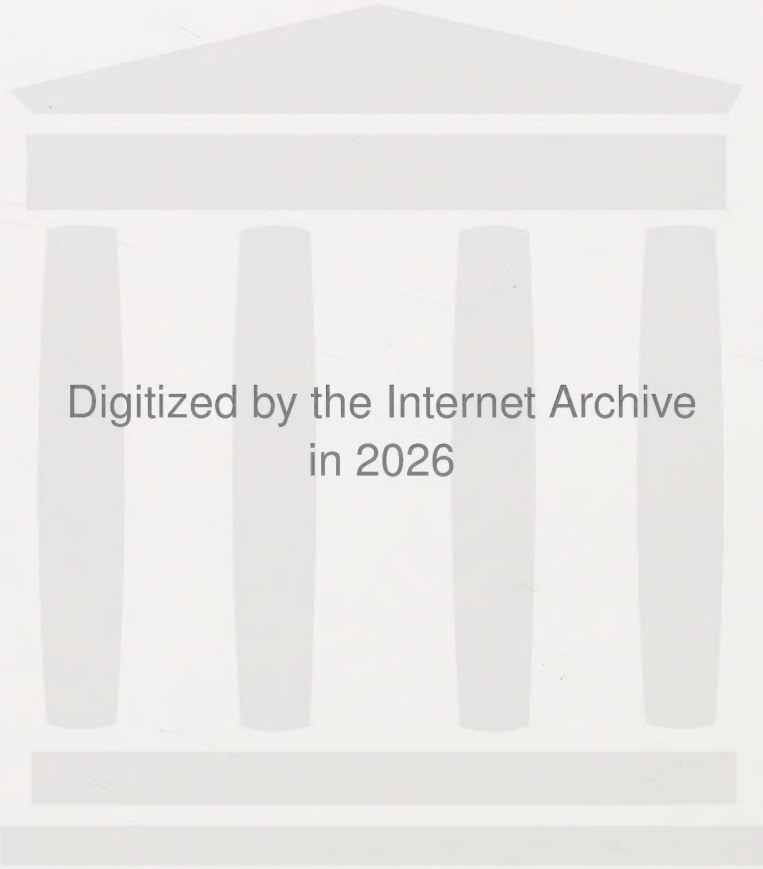
MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.
FREY.....	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MON FRÈRE ET MA SŒUR



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551429_0027

A MA FEMME

Tendrement.

A MONSIEUR ET MADAME STAMBAT

Pour les preuves de vive affection ; qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GOUGEROT

Professeur de Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques
à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis
Officier de la Légion d'Honneur

*Pour le très grand honneur
qu'il nous a fait d'accepter la
présidence de cette thèse, ce té-
moignage de profonde gratitude
et de respectueux attachement.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR PIERRE GIRAND

Directeur du laboratoire Central de Sérologie
à l'Institut Alfred Fournier
Chef de laboratoire de la Faculté de Médecine
à la Clinique Baudelocque
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui m'a suggéré l'idée de ce travail et m'a facilité la tâche en m'ouvrant largement son laboratoire et en m'aidant de ses précieux conseils. Qu'il veuille bien trouver ici un faible témoignage de ma profonde et respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR SICARD DE PLAUZOLLES

Directeur de l'Institut Alfred Fournier
Directeur général de la Ligue Nationale Française
contre le péril vénérien
Professeur au Collège libre des Sciences sociales
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nos vifs remerciements pour l'aimable accueil qu'il nous a toujours réservé.

A MES MAÎTRES DES HÔPITAUX
ET DE L'ÉCOLE DE SÉROLOGIE DE PARIS

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE SAINT DOMINGUE

A MONSIEUR LE DOCTEUR R. DEMANCHE

Ancien Interne des Hôpitaux
Chef de travaux à l'école de sérologie
Chef du laboratoire central de l'Hôpital Cochin

A MONSIEUR LE DOCTEUR E. DEBAINS

Chef du laboratoire de l'Hôpital Civil de Versailles

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. HUET

Chirurgien des Hôpitaux

A MONSIEUR LE DOCTEUR MARCERON

Ancien Interne des Hôpitaux
Médecin-chef du dispensaire Alfred Fournier

A MES AMIS

AVANT-PROPOS

L'année 1934 marque dans nos études une date décisive au point de vue sérologique. C'est en effet en janvier 1934 que nous avons commencé le stage préliminaire de l'École de Sérologie de la Faculté, stage pendant lequel nous avons eu tout le temps nécessaire pour nous initier aux nombreuses méthodes déjà existantes et pour discuter l'évolution de toutes les idées actuelles concernant l'étude de la sérologie appliquée au diagnostic de la syphilis.

Dans ce cadre admirable et véritablement unique en Europe, que représente l'Institut Alfred FOURNIER nous avons été accueillis amicalement et nous avons eu tout de suite la sensation agréable de pouvoir travailler comme dans un laboratoire personnel.

L'École de sérologie étant en communication directe avec le Laboratoire central de sérologie que dirige nôtre Maître le Docteur Pierre GIRAND, nous avons pu vivre chaque jour en étroite intimité et en toute sympathie avec ses collaborateurs : le Docteur CELOS, le Docteur ELIASCHEFF que nous remercions bien vivement de tous les bons conseils qu'ils nous ont prodigués.

Nous tenons tout particulièrement à remercier le Docteur Pierre GIRAND, qui nous aida de ses précieux conseils et de sa grande érudition, et qui, en mettant tous ses laboratoires à notre disposition, nous permit de nous consacrer plus exclusivement à l'étude si compliquée de la sérologie.

INTRODUCTION

La valeur d'une réaction biologique dépend de deux facteurs : sa *spécificité* et sa *sensibilité*.

Depuis 1906, date des premières expériences de WASSERMANN, NEISSER et BRÜCK, la sérologie n'a cessé de progresser dans cette double direction.

C'est en effet le 10 mai 1906 que ces auteurs publièrent leurs expériences, résultant de l'application, au diagnostic de la syphilis, de la méthode générale de BORDET et GENGOU (1901).

A ce moment, la réaction de WASSERMANN était considérée comme une réaction spécifique, basée sur la recherche de « substances sensibilisatrices existant dans la plupart des sérums anti-microbiens ».

La syphilis étant une maladie extrêmement répandue, des expérimentateurs du monde entier virent aussitôt l'importance que cette découverte présentait pour aider au dépistage de la syphilis et en confirmer le diagnostic.

Mais les premiers travaux publiés démontrèrent que cette réaction manquait de spécificité et de sensibilité.

Aussi, dès 1908 de nombreux auteurs ne virent-ils plus dans la réaction de WASSERMANN, qu'un simple phénomène physico-chimique tout à fait différent de la réaction de BORDET et CENGOU.

Cependant, en dépit des discussions théoriques, de multiples statistiques confirmèrent sa valeur pratique.

Devant cette réelle valeur pratique on n'a pas cessé de perfectionner cette réaction ; on a augmenté sa spécificité et sa sensibilité en modifiant les antigènes et les techniques ; on l'a simplifiée, en utilisant des réactions au sérum frais ; enfin, on a voulu la rendre plus précise en créant des méthodes de mesures.

Dans ces dernières années les recherches évoluèrent vers des réactions plus directes : les réactions de floculation.

C'est ainsi, qu'à l'heure actuelle, nous nous trouvons en présence d'un nombre tellement considérable de réactions que nous pouvons affirmer qu'il y a presque autant de techniques que de sérologistes !

Devant cette pluralité des méthodes il devenait nécessaire de les codifier, de les comparer et de juger de leur valeur respective.

C'est dans ce but qu'on réunit à Copenhague en 1923 le premier congrès de sérologie, organisé par le Comité d'hygiène de la Société des Nations.

Un deuxième congrès eut lieu également à Copenhague en 1928 (mai-juin) et 19 nations y étaient représentées.

Les conclusions principales de ce congrès furent les suivantes :

1. Les méthodes de floculation se montrèrent supérieures aux méthodes d'hémolyse au point de vue spécificité et sensibilité dans le diagnostic de la syphilis.

2. Cependant ces deux méthodes se complètent et doivent être toujours employées simultanément.

Le dernier congrès international de sérologie appliquée au diagnostic de la syphilis a été convoqué à Montevideo en septembre 1930.

Son organisation fut calquée sur celle de Copenhague mais 10 nations seulement étaient représentées.

Les conclusions furent identiques à celles de Copenhague en 1928. Elles montrèrent en effet :

1. La supériorité évidente des réactions de floculation au point de vue sensibilité et spécificité dans le diagnostic de la syphilis (Réaction de KAHN-STANDARD).

2. La nécessité d'employer toujours ces méthodes avec les méthodes d'hémolyse.

3. Que parmi les méthodes d'hémolyse étudiées à ce congrès, les réactions de BORDET-WASSERMANN modifiées par SORDELLI-MIRAVENT et HARRISON WYLLER donnèrent des résultats absolument spécifiques tout en se montrant moins sensibles que les réactions de floculation.

A la suite de ce congrès, où, nous le répétons, 10 nations seulement étaient représentées, il fut décidé que ces deux méthodes d'hémolyse (Réactions de

SORDELLI-MIRAVENT et H. WYLER) ainsi que la réaction de KAHN-STANDARD devaient être considérées comme réactions-test de la Société des Nations.

Ces congrès ont eu le mérite de donner certaines directives aux sérologistes et aux cliniciens. Cependant ils soulèvent quelques critiques :

Dans ces congrès, les manipulations de circonstance effectuées dans un laboratoire étranger différaient souvent du travail régulièrement accompli dans un laboratoire personnel, quelques soient les précautions prises.

De plus, le peu de temps dont on dispose ne permet pas toujours d'avoir une observation clinique parfaite de chaque malade et fait très important, toutes les réactions n'ont pas été défendues par leurs auteurs en personne.

Enfin particulièrement pour ce qui concerne ce dernier congrès, toutes les réactions courantes n'étaient pas représentées et beaucoup de nations, dont la France étaient absentes.

Depuis cette dernière conférence en 1930, des modifications ont été apportées aux techniques de la réaction de BORDET-WASSERMANN par M. DEBAINS et par M. DEMANCHE, et presque toutes les réactions de floculation ont été perfectionnées.

Il devenait nécessaire d'éclairer les sérologistes sur les nouvelles techniques et les cliniciens sur leur valeur pratique dans le diagnostic et le traitement de la syphilis. Profitant de l'expérience des congrès et de notre expérience personnelle, nous avons choisi

les réactions qui se sont montrées les meilleures à Montevideo et celles qui sont d'un emploi courant dans nos laboratoires.

Voici la liste des réactions d'hémolyse et de floculation qui ont été étudiées au cours de ce travail :

Réaction de BORDET-WASSERMANN par les techniques de : HARRISON WYLER ; SORDELLI et MIRAVENT ; DEBAINS ; et DEMANCHE.

Réaction au sérum frais : HECHT (Méthode de MUTTERMILCH).

Réactions de floculation : KAHN-STANDARD ; KAHN Présomptive ; MEINICKE, opacification ; MEINICKE, clarification ; (M. K. R. II) ; MULLER (M. B. R. II) ; SACHS-WITEBSKY ; VERNES.

Nous avons examiné nos malades avec le plus grand soin et avons écarté ceux dont le diagnostic pouvait être discuté.

Il nous a paru indispensable de faire précéder cette étude d'une description complète de chacune des techniques employées, étant donné que certaines de ces techniques n'ont pas été publiées en France et que d'autres ont été modifiées tout récemment.

PREMIÈRE PARTIE

- I. — *Réactions d'hémolyse au sérum chauffé.*
- II. — *Réactions d'hémolyse au sérum frais.*
- III. — *Réactions de floculation.*

CHAPITRE I

RÉACTIONS D'HÉMOLYSE AU SÉRUM CHAUFFÉ

Réaction standard de B. W. par E. J. WYLER

INTRODUCTION

Nous décrivons *in extenso* la réaction de BORDET-WASSERMANN selon la méthode de E. J. WYLER décrite par l'auteur dans la *Medical Research Council*.

APPAREILLAGES SPÉCIAUX

1^o Bain-marie à 37°, muni d'un support mobile pour les tubes, chacun renfermant quatre rangées pour 12 tubes.

2° Bain-marie à 55° pour inactiver le sérum.

3° Tubes à hémolyse 2 pouces $\times \frac{3}{8}$ pouce.

(5 centimètres $\times$ 1 centimètre environ).

4° Pipettes de précision graduées à 10 centimètres cubes, 5 centimètres cubes, 1 centimètre cube.

La vitesse d'écoulement doit être la même dans toutes les pipettes.

5° Pipettes capillaires.

6° Un hémoglobininètre d'Haldane pour la standardisation de la suspension des globules rouges de mouton.

REACTIFS

1° Sérum suspect. — 2° Sérum de cobaye. — 3° Extrait de cœur humain. — 4° Solution de cholestérol dans l'alcool absolu. — 5° Globules rouges de mouton. — 6° Sérum hémolytique anti-mouton. — 7° Eau physiologique à 8 gr. 50 pour 1.000 dans de l'eau distillée.

NETTOYAGE DE LA VERRERIE

Les tubes sont lavés dans de l'eau ordinaire, puis immergés pendant douze heures ou davantage, dans une solution froide de bichromate de K. dans l'acide sulfurique du commerce.

Pour préparer cette solution, le bichromate est dissous dans de l'acide sulfurique concentré (1).

(1) *Mélange sulfochromique :*

1) Solution très concentrée (presque à saturation) de bichromate de potassium.

Il ne suffit pas simplement de placer les tubes dans de l'acide, chaque tube doit être rempli et immergé dans la dite solution. Ceci est vite fait avec une paire de pinces adaptée pour ce travail. Après cette période d'immersion dans de l'acide, les tubes sont très soigneusement rincés, d'abord dans de l'eau ordinaire, ensuite dans de l'eau distillée et enfin stérilisés à sec.

Faire de même avec les pipettes, les verres à pied, etc...

Les réactifs ne doivent jamais se sécher sur la verrerie. Pour les pipettes on doit toujours avoir une grande éprouvette remplie d'eau ordinaire dans laquelle on a placé une couche de coton hydrophile.

Les pipettes sont placées dans cette éprouvette aussitôt utilisées et laissées jusqu'au moment du nettoyage. De même une cuvette d'eau ordinaire doit être préparée pour mettre les tubes qui ont servi.

Aussitôt nettoyés, les tubes à essais sont placés dans les porte-tubes, les couvrir avec un linge (pour éviter la poussière).

Les verres à pied sont couverts avec des boîtes de PETRI.

Ne pas fumer pendant la durée de la réaction,

2) Y verser de l'acide sulfurique concentré pur en excès. S'il se produit une légère cristallisation (CrO^3) ne pas s'en occuper.

3) Abandonner le mélange 2 ou 3 jours.

4) Filtrer pour éliminer les cristaux de CrO^3 .

5) Abandonner 1 ou 2 jours; si aucune cristallisation ne se produit, employer. S'il y a un dépôt, refiltrer. La solution est limpide, brune foncée (acajou).

car, même la plus petite particule de cendre dans un tube, peut avoir une action *anti-complémentaire*, comme cela a été démontré par mon assistant M. CLARKE.

Le bouchon de coton hydrophile pour le flacon d'eau physiologique est enveloppé de gaze, pour empêcher les particules de coton de tomber dans le liquide.

SÉRUM SUSPECT

Centrifuger si besoin et inactiver pendant 30 minutes à la température de 55° la veille de faire la réaction. Utiliser un thermomètre contrôlé avec lequel tous les thermomètres que l'on emploie doivent être vérifiés.

La température du bain-marie doit être uniforme pendant toute la durée de l'inactivation. Comme il peut y avoir des inégalités de température dans les bains-marie rectangulaires allant jusqu'à 1°, il est préférable d'employer un bain-marie circulaire fait en cuivre et pouvant contenir 50 sérums.

COMPLÉMENT

Le complément doit provenir d'un cobaye mâle et sain, pesant 500 grammes ou davantage. Les animaux sont pesés aussitôt reçus et de nouveau avant d'être tués.

Ne jamais se servir d'un animal qui a perdu du poids.

On nourrit le cobaye avec de l'avoine, des aliments verts (choux, laitues). Il doit toujours y avoir un excédent de ces deux aliments dans leurs cages.

Quand on choisit un animal pour être tué, il est isolé, sans nourriture *au moins pendant quatre heures*. On le tue en faisant une incision à la gorge après l'avoir étourdi d'un coup sur la tête.

Le sang est recueilli dans un récipient en porcelaine ; on le laisse coaguler à la température du laboratoire pendant 30 minutes. On le met ensuite 30 minutes à l'étuve à 37°. Puis le récipient doit être placé 3 heures à la glacière.

Le sérum est décanté avec une pipette et centrifugé ; il est alors prêt à être utilisé. Quand on ne s'en sert pas il doit être gardé dans la glacière.

Le complément peut être conservé en le congelant et en le gardant dans un thermos : Un tube à essais renfermant le sérum est placé dans un mélange de glace et de sel. On doit surveiller tous les jours le tube, et renouveler la glace et le sel aussi souvent que possible, pour maintenir toujours le sérum en état de congélation, car la fonte et le regel peuvent détruire le complément.

Personnellement, je préfère ne pas l'employer après quatre jours.

ANTIGÈNE

Extrait de cœur. — Un cœur humain obtenu si possible d'un sujet bien portant. La partie muscu-

laire du ventricule gauche est libérée de la graisse et épuisée par l'alcool absolu dans la proportion d'un gramme de muscle pour 9 centimètres cubes d'alcool. Le muscle coupé en petits morceaux puis hâché dans un mortier pendant une minute avec quelques centimètres cubes d'alcool et un peu de poudre de verre. Ce mélange avec le reste de l'alcool est alors mis dans un flacon à bouchon en verre qui est placé dans une étuve à 37° pendant 24 heures. On agite toutes les heures pendant quelques secondes dans le courant de la journée. Après 24 heures il est filtré dans un autre flacon bouché à l'émeri sur un papier filtre qui a été lavé à l'éther et séché préalablement. La bouteille est mise ensuite à la glacière pendant toute une nuit. Il se forme un dépôt. Le contenu est de nouveau filtré comme ci-dessus. L'extrait est placé à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière pendant trois semaines. A ce moment il est prêt pour le titrage et pour la réaction en parallèle avec un antigène connu.

L'extrait ainsi préparé est conservé dans une bouteille à bouchon en verre à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière. Il reste fixe au moins un an.

Solution de cholestérine. — On la prépare en dissolvant un gramme de cholestérine pure dans 100 centimètres cubes d'alcool absolu contenu dans un flacon bouché à l'émeri. Pour effectuer la dissolution, la bouteille est placée dans un bain-marie ou

étuve à 37° et agitée de temps en temps. La solution, comme l'extrait de cœur, est maintenue à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière.

Des petites quantités d'antigène (10 centimètres cubes) et de solution de cholestérine sont placées dans des petits flacons pour l'emploi journalier.

Les flacons sont bouchés avec des bouchons de liège (pas de caoutchouc) et recouverts de papier d'argent.

Je préfère garder ces flacons dans une étuve froide à 20° C. (68 F.) plutôt qu'à la température du laboratoire qui est variable.

SYSTÈME HÉMOLYTIQUE

Globules rouges de mouton. — Le sang est recueilli dans une grande bouteille à large goulot (de 250 centimètres cubes) contenant des perles de verre.

Le mouton étant égorgé on laisse couler les premiers jets de sang pour éviter les microbes ou impuretés se trouvant dans la laine, puis on recueille environ 100 centimètres cubes. Le flacon est immédiatement bouché et vigoureusement agité pour débriner, puis gardé à la glacière jusqu'au moment de l'emploi.

Pour s'en servir le sang doit être filtré à travers plusieurs couches de mousseline, puis centrifugé. On décante le sérum surnageant avec une pipette et les globules restent au fond du tube ; ensuite ils

sont lavés quatre fois en employant pour chaque lavage quatre fois autant d'eau physiologique qu'il y a de globules rouges. Après chaque centrifugation, la solution saline à 8,5 ‰ est décantée et le dépôt est soigneusement relavé une nouvelle fois avec une nouvelle solution physiologique (bien le laver en le mélangeant avec la pipette).

La solution saline surnageant après la dernière centrifugation doit être absolument incolore et limpide.

Sensibilisatrice hémolytique. — On obtient celle-ci soit commercialement, soit par l'inoculation au lapin en se servant d'une des meilleures techniques connues.

STANDARDISATION DE LA SUSPENSION DE GLOBULES ROUGES

On prépare une suspension de globules rouges dans l'eau physiologique. La suspension doit être deux fois plus concentrée que celle exigée pour la réaction. Cette suspension est sensibilisée et ramenée à la concentration voulue en additionnant un volume égal d'une dilution convenable de sensibilisatrice hémolytique.

La suspension de globules rouges est standardisée d'après la méthode décrite par BIGGER (*Lancet*, 1921, II, 1369).

La standardisation demande 10' ; le seul appareil

spécial nécessaire est l'Hémoglobininètre d'Haldane. On procède comme suit :

Dans un tube à essais, préparer une suspension à 20 % de globules rouges lavés. Avec une pipette d'un centimètre cube, faire plusieurs barbotages dans la suspension, puis, retirer un peu plus d'un centimètre cube. Nettoyer l'extérieur de la pipette ; placer la pointe de la pipette contre le côté du tube à essais contenant la suspension à 20 % au-dessus du liquide et faire couler jusqu'à ce qu'un centimètre cube exactement reste dans la pipette. Ensuite, placer la pointe de la pipette au fond d'un large tube à essais et faire couler exactement 0 cc. 5.

Ajouter 10 centimètres cubes d'eau distillée avec une pipette de 10 centimètres cubes — puis 4 centimètres cubes avec une pipette de 5 centimètres cubes, puis 0 cc. 5 avec une pipette de 1 centimètre cube. De cette façon, 0 cc. 5 de la suspension est laqué et dilué au $1/30$.

Avec une pipette capillaire fixée à un tube à gaz d'éclairage faire barbotter pendant 30 secondes le gaz dans ladite suspension jusqu'à l'apparition de la couleur rouge-cerise de carbo-oxyhémoglobine. Puis, avec une pipette, mettre un peu de ce liquide dans un tube à comparaison d'Haldane et comparer la teinte avec celle du tube standard de Haldane (centrifuger pendant 20 minutes à 1.500 tours à la minute ; en opérant de cette façon la solution ci-dessus donne exactement ou presque la teinte nécessaire).

Si la teinte est plus foncée ou plus claire, un nouvel

essai doit être fait en se servant d'une plus ou moins grande quantité d'eau distillée.

La *concentration* de la suspension de globules rouges employée dans mon laboratoire (avant d'ajouter la quantité égale de sensibilisatrice) est telle que, quand une partie est mélangée avec 9 parties d'eau et que du gaz a barboté dans le mélange, la teinte résultante est exactement semblable à celle du tube standard d'Haldane. La quantité de dilution nécessaire pour chaque centimètre cube de la suspension à 20 % peut être calculée suivant la formule du Professeur BIBGER :

$$\frac{X - (p - 1)}{p} \text{ centimètres cubes,}$$

X = quantité d'eau nécessaire à ajouter à 1 centimètres cube de la suspension à 20 % pour produire la teinte d'Haldane.

p = *le multiple* (dans mon laboratoire, c'est 10).

Ainsi dans l'exemple ci-dessus :

X = 29, par conséquent :

$$\frac{29 - (10 - 1)}{10} = \text{quantité de solution physiologique,}$$

qu'il faut ajouter à chaque centimètre cube de la suspension à 20 % —

$$\frac{29 - 9}{10} = \frac{20}{10} = 2 \text{ centimètres cubes.}$$

Ainsi dans l'exemple donné, il est nécessaire d'ajouter 2 centimètres cube de la solution physiolo-

gique à chaque centimètre cube de la suspension à 20 % pour obtenir la suspension non sensibilisée.

TITRAGE DE LA SENSIBILISATRICE HÉMOLYTIQUE

Ranger quelques tubes dans un porte-tubes. Dans chaque tube on introduit un volume d'une suspension de globules rouges de mouton standardisés et ramenés à la même concentration que la suspension sensibilisée, utilisée dans la réaction proprement dite.

Cette suspension est préparée comme nous le décrivons ci-dessous, en dédoublant un volume de la suspension de globules rouges standardisés avec un volume d'eau physiologique. La suspension doit être placée au fond des tubes avec une pipette. On prépare une série de dilution de sérum hémolytique anti-mouton : $1/10$ — $1/20$ — $1/40$ — $1/60$ — $1/80$ — $1/100$ — $1/150$ — $1/200$ — $1/300$ — $1/1.000$ — $1/1.500$ — $1/2.000$ — $1/3.000$ jusqu'à $1/10.000$ et de chacune de ces dilutions commençant par la dilution la plus faible, un volume est retiré et ajouté aux globules rouges, de sorte que la rangée des tubes contient maintenant des quantités égales de globules rouges en contact avec des quantités variables de sensibilisatrice hémolytique. Chaque tube est individuellement agité dès que l'on a ajouté la dilution de sensibilisatrice.

On place ensuite les tubes dans un bain-marie à 37° pendant 15 minutes en les agitant toutes les cinq

minutes. Au bout de 15 minutes on place les tubes renfermant les globules sensibilisés de 1/10 à 1/300 à la température du laboratoire. Dans chacun des tubes qui restent, renfermant les globules sensibilisés de 1/1.000 et au-dessus, on ajoute un volume de solution physiologique, puis un volume de complément dilué au 1/10 (dont on a trouvé préalablement une activité hémolytique moyenne — voir ci-dessous titrage du complément). Il faut que le volume total de chaque tube employé pour le titrage soit égal au volume de la réaction proprement dite. On agite le porte-tubes qui est de nouveau placé dans un bain-marie à 37° pour une demi-heure. Agiter toutes les 5 minutes : au bout d'une demi-heure on choisit le tube qui renferme la plus petite quantité de sensibilisatrice qui donne une *hémolyse complète* (la dilution de sérum hémolytique dans ce tube sera la dose minima hémolytique (D. M. H.) de la sensibilisatrice.

Ne jamais utiliser une sensibilisatrice d'un titrage inférieur à 1/1.000. En effet, on a constaté que des globules rouges sensibilisés avec un sérum hémolytique de titre élevé augmentaient la puissance du titrage du complément. Ceci a une influence sur la réaction, puisque, comme l'a démontré BROWNING, l'activité et la fixabilité hémolytique d'un complément ne vont pas de pair.

Il y a certaines précautions à prendre quand on fait le titrage de la sensibilisatrice :

1° Le complément utilisé doit provenir au moins

de *trois cobayes*. Il faut vérifier ce sérum de cobaye pour savoir s'il ne renferme pas une activité hémolytique naturelle qui pourrait être suffisante pour produire l'hémolyse.

Pour cette raison, un volume de sérum de cobaye au 1/40 est ajouté à 2 volumes d'eau physiologique à 8,5 ‰ et un volume de globules standardisés (non sensibilisés); ensuite, mettre au bain-marie à 37° pendant une demi-heure, puis centrifuger; dans le cas où l'eau physiologique surnageante *est colorée*; rejeter le complément.

2° Un tube contrôle pour les globules rouges qui consiste à mettre en présence 3 volumes d'eau physiologique et un volume de globules rouges standardisés. Ce tube est mis au bain-marie à 37° pendant une demi-heure, puis centrifuger; la solution à 8,5 ‰ doit être *incoloré*.

3° Les globules rouges de mouton doivent être frais et non conservés dans du formol.

4° Pour vérifier les réactifs employés, il est utile de titrer une nouvelle sensibilisatrice en parallèle avec une sensibilisatrice connue dont le titrage a été essayé avec plusieurs autres réactions.

Les tubes renfermant les dilutions de sensibilisatrice de 1/10 à 1/300 sont examinés avec une *lentille X6* après 4 heures à la température du laboratoire pour déceler s'il y a une agglutination, afin de déterminer, si en se plaçant dans les conditions d'une réaction B. W. il y a présence d'une agglutinine qui empêcherait la lyse. Si au bout de ce

temps (4 heures), il y a une agglutination quelconque dans un tube contenant, par exemple, trois fois la concentration donnée par le titrage, il faut prendre soin de bien agiter la suspension avant de faire la réaction et aussi dans le titrage préliminaire du complément. S'il y a agglutination au-dessus de 3 fois *il faut rejeter cette sensibilisatrice.*

Pour sensibiliser les globules rouges, 6 doses minima hémolytiques sont employées.

La préparation des globules rouges sensibilisés pour le titrage du complément et pour la réaction se fait de la manière suivante :

Prenons un exemple.

Pour préparer 20 centimètres cubes de G. R. S. avec une sensibilisatrice titrée à $1/1.500$ (D. M. H.) on fait une dilution du sérum hémolytique à $1/125$ qui contiendra ainsi 12 D. M. H.

Dans notre exemple, on prendra 0,1 de sérum hémolytique pur, puis 12 cc. 4 d'eau salée à 8,5 ‰.

Nous obtenons ainsi 12 cc. 5 de dilution à $1/125$. Après avoir bien mélangé, on prend 10 centimètres cubes de cette dilution et on les ajoute à 10 centimètres cubes de globules standardisés. Les 10 centimètres cubes de globules venant doubler le volume de cette solution, les 20 centimètres cubes préparés ne contiennent plus que 6 D. M. H.

Le mélange qui est convenablement préparé dans une éprouvette cylindrique est mis au bain-marie à 37° pendant 5 minutes. L'éprouvette est retirée du bain-marie, séchée, renversée sur la paume de la

main, puis remise au bain-marie pendant 10 minutes; ensuite on la garde à la température du laboratoire pour être utilisée au moment nécessaire.

Quoique la suspension de globules rouges soit standardisée comme nous l'avons décrite, il est recommandé, pour éviter toute cause d'erreur, de préparer une quantité suffisante de globules sensibilisés pour le titrage préliminaire et pour toutes les réactions qui doivent être faites dans la journée. Ne pas préparer de petites quantités séparées pour le titrage et pour la réaction.

La sensibilisatrice est très stable et n'a pas besoin d'être titrée plus d'une fois tous les trois mois. *On doit la conserver à la glacière* (1). (Voir note, tableau page suivante).

TITRAGE DU COMPLÉMENT

On fait cette opération chaque jour avant d'effectuer les réactions. Le volume de liquide dans chaque tube doit être égal au volume employé dans les tubes de la réaction.

Avec une pipette capillaire calibrée de façon qu'elle puisse mesurer 0 cc. 11, soit avec une pipette spéciale, soit avec une pipette courante (nous nous servons de ces volumes dans nos réactions) (2), on

(2) « Ce n'est pas les quantités absolues qui sont importantes dans la réaction B. W. mais les proportions des éléments du mélange, par conséquent on peut se servir de l'une ou de l'autre méthode, mais il est convenable de calibrer la pipette pour qu'elle puisse mesurer le même volume que le volume *unité* adopté pour la réaction ». Nous avons utilisé comme unité pour toutes nos recherches, 0,25 au lieu de 0 cc. 11 employé par l'auteur de cette réaction.

(1) A la suite de cette longue description concernant le titrage du sérum hémolytique, nous croyons indispensable de résumer d'une manière pratique et de fixer la compréhension de ce titrage par le tableau ci-dessous.

TABLEAU N° 1

1.20	1.40	1.60	1.80	1.100	1.200	1.300	Sérum hématytique	1/1000	1/2000	1/3000	1/4000	1/5000	1/6000	1/7000	1/8000	1/9000	1/10000
0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	dilué	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	G. R. St. dilués 1/2 avec de l'eau salée 8.5 0/00	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Laisser 15' au B. M. à 37°																	
puis 4 heures au laboratoire.																	
Lecture à la loupe.																	
15' au B. M. à 37°																	
Eau physiologique																	
Complément 1/10																	
Lecture après 30' au B. M. à 37°.																	

fait une dilution au $1/10$ du complément en ajoutant à un volume de complément 9 volumes d'eau physiologique. L'on se sert de la même pipette pour tous les réactifs employés dans le titrage, il est entendu que lorsqu'on prend une des dilutions ou un des réactifs le liquide doit être aspiré avec une pipette et rejeté trois fois avant de s'en servir, de même, la pipette doit être lavée trois fois avec une solution à $8,5\text{ ‰}$ entre les différents réactifs.

Dans une rangée de 8 tubes : Mettre dans chaque tube de gauche à droite, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9 volumes d'eau physiologique.

Ensuite, verser dans chacun des 8 tubes un volume de complément dilué au $1/10$. Les dilutions résultant de complément, allant de gauche à droite seront de : $1/30$ — $1/40$ — $1/50$ — $1/60$ — $1/70$ — $1/80$ — $1/90$ — $1/100$.

Deux rangées de tubes sont disposées de manière à correspondre aux différentes dilutions de complément, comme suit :

La rangée n° 1 contient :

- 2 volumes de solution physiologique.
- 1 volume de solution de complément.
- 1 volume de globules sensibilisés.

La rangée n° 2 contient :

- 1 volume de solution physiologique.
- 1 volume de solution de complément.
- 1 volume de suspension d'antigène.
- 1 volume de globules sensibilisés.

La solution saline est d'abord versée dans les tubes des rangées n° 1 et 2, ensuite les dilutions respectives de complément allant de la dilution la plus faible à la plus concentrée, c'est-à-dire de droite à gauche. (Comme mesure de précaution il est bon à ce moment de placer les dilutions du complément dans la glacière et ne pas les laisser sur la table du laboratoire, ces dilutions seront prêtes sans avoir subi de détérioration à la température du laboratoire pour servir, si besoin, à refaire le tirage.)

On ajoute à chaque tube du porte-tube n° 2, un volume de suspension d'antigène ; agiter le porte-tube, recouvrir avec un linge et laisser de côté pendant 30 minutes à la température du laboratoire.

Les globules sensibilisés sont très bien agités et un volume est ajouté à chaque tube de la rangée n° 1 ; en même temps un tube supplémentaire renfermant un volume de globules et 3, d'eau physiologique (contrôle globulaire) est placé sur le porte-tube. Bien agiter tous les tubes, puis porter au bain-marie à 37°. Agiter de 5 minutes en 5 minutes, au bout de 30', on lit le titre du complément (D.M.H). Pour ceci : prendre le tube où l'hémolyse est presque complète (*pas hémolyse complète*), c'est-à-dire où il y a un léger « brouillard » et l'on trouvera ce tube à droite de la dilution du complément la plus élevée, où il y a lyse complète. Ainsi, si le tube renfermant 1/70 du complément montre une lyse complète et le tube 1/80 montre une lyse *presque* complète la dose minima hémolytique du complément (D. M. H)

serait $1/80$. L' (D. M. H.) donne généralement entre $1/50$ et $1/80$. Je préfère ne pas utiliser un complément inférieur à $1/40$. Les dilutions respectives à utiliser dans la réaction, décrite ci-dessous, seraient comme suit (quand le titre est à $1/80$) :

- 2 D. M. H. $1/40$.
- 3 D. M. H. $1/26,66$.
- 5 D. M. H. $1/16$.

Quand on prépare des dilutions physiologiques, on mesure la solution physiologique avec une pipette à 10 centimètres cubes pour des quantités au-dessus de 10 centimètres cubes, on se sert d'une pipette 5 centimètres cubes pour des quantités allant de 1 centimètre cube à 5 centimètre cubes et pour des quantités jusqu'à 1 centimètre cube, prendre une pipette de 1 centimètre cube.

Ainsi par exemple, si 12 cc. 83 de solution physiologique sont nécessaires, on prélève d'abord 10 centimètres cubes avec une pipette à 10 centimètres cubes ensuite 2 centimètres cubes avec une pipette à 5 centimètres cubes et enfin, 0,83 avec une pipette à 1 centimètre cube. On mesure le sérum de cobaye avec une pipette à 1 centimètre cube.

Les dilutions sont mieux préparées dans des éprouvettes graduées et on lit les quantités quand les dilutions sont terminées, on peut ainsi vérifier les erreurs s'il y en a.

Si, après le titrage, on prépare aussitôt les dilutions de complément que l'on utilisera seulement plus

tard, nous conseillons de les garder à la glacière puis de les laisser un moment à la température du laboratoire avant leur emploi.

Maintenant, on centrifuge le tube de contrôle de globules rouges. L'eau physiologique surnageant doit être incolore, s'il y a une coloration rose, le travail doit être recommencé avec une quantité fraîche de sang de mouton. Le porte-tube de la rangée n° 2 après être resté à la température du laboratoire, 30 minutes, est placé dans un bain-marie à 37° pendant 30 minutes. On ajoute alors, un volume de globules sensibilisés à chaque tube ; le porte-tube est agité et de nouveau placé dans un bain-marie à 37° pendant 30 minutes. On l'agite toutes les 5 minutes.

Si le résultat de l'incubation finale de la rangée n° 2 indique que le titre tel qu'il est vérifié dans la rangée n° 1, n'a pas été réduit de plus d'une dose par la présence de l'antigène, on accepte la lecture des résultats obtenus dans la rangée n° 1.

Ainsi, si le titre de la rangée n° 1 donne 1/80, comme dans l'exemple ci-dessus, le titre de la rangée n° 2 doit montrer une lyse d'un degré correspondant au tube 1/40. Généralement, la quantité de complément absorbé par l'antigène est de beaucoup inférieure à une dose.

Si dans le porte-tube n° 1 on obtient un titrage égal ou inférieur, 1/40 ou 1/50, il faudra refaire 1^{er} titrage du porte-tube n° 2 (contenant l'antigène) en partant des dilutions de 1/10 — 1/15 — 1/20 — 1/25.

Si, comme cela arrive assez souvent, le titre de la

rangée n° 2 indique que plus d'une dose de complément est fixée par l'antigène, on doit alors rejeter le complément et se servir d'un nouveau sérum de cobaye.

Il est utile de doubler la rangée n° 2 qui est placée dans un bain-marie simultanément avec la rangée n° 1 ; on supprime ainsi les 30 minutes d'incubation à la température du laboratoire ; au bout d'une demi-heure on ajoute les globules sensibilisés.

Par cette méthode on peut obtenir une indication prématurée sur l'hypersensibilité du complément vis à vis de l'antigène. Il ne faut pas toutefois se fier à cette méthode rapide à l'exclusion de la technique habituelle (30' à la température du laboratoire, puis 30' au B. M.). Ainsi une fois le complément a été absorbé par plus d'une dose D. M. H. avec l'incubation habituelle bien que nous ayons obtenu une absorption de moins d'une dose D. M. H. par la méthode rapide (1). (Voir note, tableau page suivante).

STANDARDISATION ET TITRAGE DE L'ANTIGÈNE

Avant de se servir d'un nouvel extrait, on procède comme suit :

1° Les réactions seront faites avec le nouvel antigène en parallèle avec un antigène connu.

2° On fera de même le titrage du complément en présence des deux antigènes (le nouveau et l'usuel).

3° On fera des titrages avec des dilutions variées

(1)

TABLEAU N° 2

G.R.T.	I									II										
	1 30	1 40	1 50	1 60	1 70	1 80	1 90	1 100		1 30	1 40	1 50	1 60	1 70	1 80	1 90	1 100			
	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	Complément dilué à	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25			
0,75	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		Eau physiologique	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		
									Antigène 1 15	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25			
0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	G. R. sensibilisés	30' à la température du labo plus 30' au B. M. à 37°.								0,25	0,25	0,25
											0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		
										30' au B. M. à 37°										
										Lecture										

des deux antigènes en présence d'un sérum négatif.

4^o On doit s'assurer que le nouvel antigène n'a pas un pouvoir hémolytique.

1^o, 2^o. On doit faire au moins 50 réactions avec le nouvel antigène en comparaison avec un antigène connu, avec des sérums qui donnent des réactions + (c'est-à-dire lyse partielle avec 3 ou 5 doses de complément). Le titrage du complément préliminaire doit être fait en présence de l'antigène nouveau et de l'antigène usuel. Les résultats comparés du titrage et des réactions sont habituellement identiques, mais parfois les réactions avec du sérum peuvent montrer qu'un extrait de cœur peut être plus antigénique que normalement, bien que dans le titrage du complément l'extrait ne se montre pas plus anti-complémentaire que d'habitude. Un tel extrait doit être essayé en parallèle avec un extrait usuel en présence des sérums des sujets chez lesquels la syphilis peut être éliminée avec une grande probabilité. Ce même extrait doit donner des résultats négatifs régulièrement avant d'être adopté pour l'usage courant.

L'antigène (extrait de cœur cholestérine) doit être dilué pour être employé au 1/15, on doit le diluer extemporanément comme suit :

Supposons qu'on ait besoin de 15 centimètres cubes : Prendre 2 éprouvettes de 25 centimètres cubes chacune.

Dans l'une placer 10 centimètres cubes d'eau

physiologique avec une pipette à 10 centimètres cubes et ensuite 4 centimètres cubes avec une pipette à 5 centimètres cubes.

Avec une pipette à 1 centimètre cube prendre un peu plus de 0 cc. 7 d'extrait de cœur ; nettoyer l'extérieur de la pipette ; placer la pipette contre la paroi interne du flacon renfermant l'extrait et faire couler jusqu'à ce qu'il reste 0 cc. 7 exactement dans la pipette. Ensuite placer la pointe de la pipette au fond de l'autre éprouvette de 25 centimètres cubes et faire couler 0 cc. 6 exactement de l'extrait, puis remettre 0 cc. 1 de l'extrait qui reste dans le flacon qui contient l'extrait pur. Laver la pipette avec une pompe aspiratrice d'abord, avec de l'eau distillée ensuite, avec de l'acétone et sécher à la flamme de Bunsen.

Laisser refroidir et retirer du flacon renfermant la solution de cholestérine, un peu plus de 0 cc. 5 ; nettoyer l'extérieur de la pipette et laisser couler dans le flacon jusqu'à n'avoir 0 cc. 5 exactement. Ajouter 0 cc. 4 dans l'éprouvette où se trouve l'extrait de cœur en suivant la technique ci-dessus. Rejeter le 0 cc. 1 de solution de cholestérine. Agiter pendant un instant et verser les 14 centimètres cubes d'eau physiologique sur l'antigène cholestériné. Transvaser ladite suspension de l'une à l'autre 2 fois, puis finalement la renverser, en prenant soin de boucher l'éprouvette avec la paume de la main, la couvrir avec une boîte de Petri. La préparation de l'antigène est faite immédiatement, après

avoir préparé la suspension de globules rouges, et avant le titrage du complément, car la suspension d'antigène au repos augmente sa densité au début. Ainsi il doit y avoir un intervalle entre sa préparation et son emploi pour que ce phénomène s'accomplisse.

3^o On fait le titrage de l'antigène avec un sérum d'un sujet non syphilitique et on procède comme suit : on dilue l'antigène en ajoutant l'eau physiologique comme il a été décrit ci-dessus. On prépare une série de 5 suspensions des deux extraits cholestérinés, titrés à $1/2,5$, $1/5$, $1/7,5$, $1/10$, $1/15$. Les suspensions doivent être préparées séparément et non en utilisant les dilutions déjà préparées.

Dans deux rangées de tubes (une rangée pour l'extrait connu et l'autre pour le nouveau), placer un volume de sérum négatif dilué au $1/5$, plus un volume de dilution de complément renfermant 3 D. M. H. ajouter un volume de chaque suspension d'extrait dans le tube correspondant, allant de la dilution la plus diluée à la plus concentrée, respectivement des deux extraits. Agiter les porte-tubes. Procéder comme dans la réaction usuelle, c'est-à-dire laisser le porte-tube 30' à la température du laboratoire puis 30' dans le bain-marie à 37°. Après ces 30' on ajoute un volume de globules sensibilisés dans chaque tube, on agite puis on remet au bain-marie. Avec un sérum normal, les tubes contenant les suspensions de l'extrait à $1/7,5$, $1/10$, $1/15$ montrent une lyse complète, et les tubes renfermant

la dilution au 1/5 montrent une lyse complète ou presque complète dans 30'.

On se sert du procédé ci-dessus en parallèle pour que l'extrait usuel serve de témoin au nouvel extrait dans le cas où le sérum employé aurait un pouvoir fixateur anormal. Des tubes contrôle de sérum et de globules sont ajoutés à cette expérience.

4^o Finalement, on doit s'assurer que l'extrait cholestériné n'a pas un pouvoir hémolytique. Pour ceci : un volume de suspension d'extrait cholestériné 1/5 est mis à incuber au bain-marie avec un volume de suspension de globules rouges et 2 volumes de solution physiologique pendant une heure ; le tube est ensuite centrifugé, le liquide surnageant doit être incolore.

LA RÉACTION PROPREMENT DITE

Quatre tubes sont nécessaires pour chaque sérum.

Chaque tube contient la même quantité de liquide dans la proportion suivante :

TUBE n^o 1. — *Sérum témoin*. 1 volume de solution physiologique.

1 volume de sérum de malade dilué à 1 pour 5 dans une solution physiologique.

1 volume de dilution de complément dans de la solution physiologique contenant trois doses hémolytiques minima (3 D. M. H.).

TUBE n^o 2. — *Sérum témoin*. Même indication

que pour le tube n° 1, mais le volume de dilution de complément dans la solution physiologique contient *deux doses hémolytiques minima* (2 D. M. H.).

TUBE n° 3. — 1 volume de sérum de malade dilué au $1/5$.

1 volume de dilution de complément dans de la solution physiologique contenant 5 doses hémolytiques minima. 5 D. M. H.

1 volume de suspension d'antigène.

TUBE n° 4. — Même indication que pour le tube n° 3, mais le volume de la dilution de complément dans la solution physiologique contient 3 doses hémolytiques minima. 3 D. M. H.

L'ordre à suivre pour ajouter les réactifs :

1° 1 volume de sérum dilué au $1/5$ dans tous les tubes.

2° 1 volume de solution physiologique dans les tubes 1 et 2.

3° 1 volume de dilution de complément contenant 2 D. M. H. dans le tube n° 2.

4° 1 volume de dilution de complément contenant 3 D. M. H. dans les tubes 1 et 4.

5° 1 volume de complément dilué à 5 D. M. H. dans le tube 3.

6° 1 volume de suspension d'antigène dans les tubes 3 et 4. On agite les porte-tubes chaque fois qu'on ajoute chaque groupe d'élément.

Les tubes sont incubés tout d'abord à la température de la chambre pendant 30' et ensuite dans un

bain-marie à 37° pendant 30', après quoi on ajoute un volume de globules sensibilisés dans chaque tube et les porte-tubes sont replacés au bain-marie à 37° (1).

On lit le résultat aussitôt que quelques-uns des tubes n° 1 et le tube n° 4, du sérum négatif contrôle montrent une hémolyse complète. Généralement elle se manifeste au bout de 5 minutes, bien que la vitesse de la lyse varie légèrement avec la qualité de la sensibilisatrice.

Le sérum témoin (tube n° 1) contenant 3 D. M. H. de complément peut être complètement hémolysé dans trois minutes. Quelques-uns des tubes témoins contenant le 2 D. M. H. (tube n° 2) sont souvent incomplètement hémolysés quand les porte-tubes sont enlevés du bain-marie pour la lecture de la réaction, mais hémolysent généralement quelques minutes après, à la température du laboratoire, sauf

(1) TABLEAU N° 3

Tubes	1	2	3	4
Sérum 56° dilué à 1/5	0,25	0,25	0,25	0,25
Eau physiologique	0,25	0,25	—	—
Complément dilué à 2 D.M.H.	—	0,25	—	—
» » à 3 D.M.H.	0,25	—	—	0,25
» » à 5 D.M.H.	—	—	0,25	—
Antigène	—	—	0,25	0,25
30' à la température du laboratoire plus 30' au B. M. à 37°				
G. R. Sensibilisés.....	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture du résultat				

dans les cas où les sérums sont anticomplémentaires.

Dans la série de réactions on doit commencer par un sérum connu positif et finir par un sérum négatif (connu) ; on doit aussi ajouter un tube de contrôle globulaire qui consiste en un volume de globules rouges sensibilisés et 3 volumes de solution physiologique ; le tube est centrifugé après lecture des réactions et le liquide surnageant doit être incolore montrant ainsi qu'il ne s'est pas produit de destruction globulaire pendant toute la durée de la réaction.

Un tube contenant 1 volume d'eau physiologique plus 1 volume de complément à (2 D. M. H.) plus 1 volume antigène plus un volume G. R. S. ce tube doit rester encore 30' dans le bain-marie après la sortie des tubes à réaction.

Au bout de ce temps, ce tube doit être hémolysé complètement pour constater si l'antigène n'absorbe pas plus d'une dose (D. M. H.) de complément.

LECTURE

++ Absence complète d'hémolyse dans les tubes où il y a 3 D. M. H. puis complète ou presque dans le tube à 5 D. M. H.

+ Absence complète ou presque avec 3 D. M. H. et hémolyse partielle avec 5 D. M. H.

± Hémolyse partielle avec 3 D. M. H. de complément puis hémolyse complète avec 5 D. M. H.

— Hémolyse complète avec 3 et 5 D. M. H.

Réaction standard de B. W. par Sordelli et Miravent

INTRODUCTION

Nous exposons ici un résumé très simplifié de la technique de la réaction de B. W. décrite par MM. SORDELLI et MIRAVENT et nous nous gardons bien de répéter tout ce qui a été déjà dit à propos de différents éléments dans notre précédente description : Le B. W. par J. WYLER.

MATÉRIEL SPÉCIAL

Un hémoglobininètre de Sahli-Leitz.

RÉACTIFS :

Antigène. — L'antigène n'est autre que celui décrit par Bordet et Ruelens (*C. R. Soc. de Biologie*, 1919, t. LXXXII, page 880). C'est un extrait alcoolique de cœur de veau. Il est obtenu en macérant le tissu cardiaque (veau) haché ; coagulé préalablement par l'alcool, puis épuisé par l'acétone. Cet antigène est employé sans addition de cholestérine et ne contient par conséquent qu'une faible quantité de cette substance.

Nous avons toujours employé pour pratiquer

cette réaction l'antigène fabriqué par l'Institut bactériologique du département national d'Hygiène à Buenos-Ayres.

Mode de dilution. — L'extrait est d'abord évaporé jusqu'à dessiccation, en plaçant à l'étuve à 37°, 2 centimètres cubes d'antigène sur un verre de montre, ou une boîte de Petri, de 10 centimètres de diamètre. L'extrait sec est alors repris par 4 centimètres cubes d'eau distillée à l'aide d'une baguette de verre. On ajoute d'abord 0 cc. 3 d'eau distillée puis goutte à goutte jusqu'à compléter à 4 centimètres cubes. Il doit se former ainsi une émulsion homogène et sans grumeaux. Cette suspension est transvasée dans une éprouvette graduée de 50 centimètres cubes. Le verre de montre est rincé avec quelques centimètres cubes de solution physiologique que l'on ajoute à la suspension d'antigène, cette opération est renouvelée jusqu'à obtenir 40 centimètres cubes de suspension d'antigène dans l'éprouvette, ce qui donne une dilution de l'antigène au 1/20. Partant de cette dilution au 1/20 on prépare une dilution au 1/100.

Eau Physiologique : 8 gr. 5 par 1.000 centimètres cubes d'eau distillée.

Sérums à examiner : Les sérums sont centrifugés puis inactivés pendant 30' au B. M. à 56°.

Globules rouges de mouton : Le sang de mouton

est filtré au travers d'une gaze de 20×20 pliée en quatre. Prendre 10 centimètres cubes de sang puis ajouter 20 centimètres cubes d'eau physiologique, centrifuger, décanter et ajouter à nouveau 25 centimètres cubes d'eau salée à 8,5 ‰ ; bien mélanger, centrifuger. Refaire deux fois la même opération. Transvaser les hématies ainsi lavées dans une éprouvette graduée de 100 centimètres cubes et compléter jusqu'à 100 centimètres cubes avec la solution physiologique, en prenant soin de bien rincer le tube à centrifuger avec l'eau salée qui doit servir à faire la suspension globulaire.

Cette suspension d'hématies au 1/10 doit contenir 8 ‰ d'hémoglobine (échelle Sahli-Leitz).

SÉRUM HÉMOLYTIQUE

Titration. — Le sérum hémolytique de lapin (obtenu soit en inoculant un lapin avec des globules rouges de mouton, soit commercialement) est titré tous les trente jours par la méthode suivante : on dispose dans un porte-tubes 8 tubes à réaction dans lesquels on met des doses croissantes de sérum hémolytique ramenées au volume de 0 cc. 5 auxquelles on ajoute 0 cc. 5 de globules rouges de mouton à 10 ‰ ; après un séjour de 5' au B. M. à 37° on ajoute 1 centimètre cube d'Alexine dilué au 1/20. Agiter. Remettre 30' au B. M. à 37°.

La plus petite dose d'hémolysine qui donne

l'hémolyse complète sera l'unité hémolytique de ce sérum (1).

TABLEAU N° 4

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Sérum hémolytique dilué au 1/500	0,1	0,12	0,14	0,17	0,2	0,24	0,29	0,35
Eau physiologique . . .	0,4	0,38	0,36	0,33	0,3	0,26	0,21	0,15
Suspension de G. R. au 1/10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
5' au bain-marie à 37°								
Complément au 1/20.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
30' au bain-marie à 37°								
Dilutions correspondantes du sérum hémolytique	1/5000	1/4000	1/3500	1/2900	1/2500	1/2000	1/1700	1/1400

Dans l'exemple du tableau ci-dessus nous voyons que le sérum hémolytique a été dilué en partant d'une dilution au 1/500 car il s'agissait d'une hémolyse donnant l'hémolyse totale au taux de 1/2900.

(1) Nous insistons sur le fait que dans ce titrage l'unité de dilution est calculée en englobant le volume de la suspension de globules rouges. Ainsi par exemple on dilue 0,1 d'une dilution au 1/500 en ajoutant d'abord 0,4 d'eau salée puis 0,5 de globules rouges à 10 % pour obtenir une dilution au 1/5000. Il ne faut pas s'étonner d'obtenir un sérum hémolytique d'un titre aussi fort en opérant de cette façon et surtout en ajoutant des quantités telles qu'un centimètre cube d'Alexine au 1/20. Le titre comme nous le voyons n'a pas de valeur — en soi-même — mais dépend uniquement de la façon dont les calculs sont effectués et du taux des autres éléments.

Dans le cas d'un sérum hémolytique faible il faudra refaire le titrage en partant d'une dilution au 1/100.

Pour le titrage du complément ainsi que pour la réaction proprement dite on emploie un système hémolytique contenant 5 doses hémolytiques. Le système hémolytique est rapidement préparé en employant du sérum hémolytique à une dilution 10 fois plus concentrée que celle indiquée par le titrage puis en ajoutant une égale quantité de suspension de G. R. à 10 %.

Ainsi, si le titre est de 1/2900 l'on fera d'abord une dilution de sérum hémolytique au 1/290, puis le volume de cette dilution sera doublée avec une suspension de G. R. à 10 % et l'on obtient ainsi les *Globules rouges sensibilisés*.

COMPLÉMENT

Titration. — Le complément obtenu par ponction du cœur de cobayes mâles (4 au moins) est employé dilué au 1/20.

On dispose 3 séries de 7 tubes dans lesquelles on fera le titrage du complément.

Dans la 1^{re} série : sans antigène.

Dans la 2^e série : en présence de l'antigène au 1/20.

Dans la 3^e série : en présence de l'antigène au 1/100.

TABLEAU N° 5

Première série

Tubes	1	2	3	4	5	6	7
Complément 1/20 en cc.	0,13	0,15	0,18	0,21	0,24	0,27	0,3
Eau salée à 8,5°/00 en cc.	0,85	0,85	0,8	0,8	0,75	0,75	0,7
1 heure au B. M. à 37°							
G. R. sensibilisés	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
1/2 heure au B. M. à 37°							
<i>Deuxième série</i>							
Complément 1/20	0,13	0,15	0,18	0,21	0,24	0,27	0,3
Eau salée 8,5°/00	0,45	0,45	0,4	0,4	0,35	0,35	0,3
Antigène 1/20	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
1 heure au B. M. à 37°							
G. R. sensibilisés	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
1/2 heure au B. M. à 37°							

La 3^e série est la même que la 2^e seulement en présence de l'antigène dilué au 1/100. Les 3 portetubes sont placés une première fois dans un B. M. à 37° pendant une heure, puis l'on ajoute les G. R. S., bien agiter; remettre les 3 séries au B. M. à 37° pour une demi-heure en prenant soin de bien agiter de 10' en 10'. Au bout de ce temps on voit quelle est la plus petite dose de complément qui donne l'hémolyse totale dans les 3 séries.

Pour pratiquer la réaction une dose puis une dose et demie sont nécessaires. Ainsi si la plus petite dose est 0 cc. 18 une dose et demie sera 0 cc. 27.

RÉACTION PROPREMENT DITE

On emploie cinq tubes pour chaque sérum.

On commence par mettre 0 cc. 1 de sérum à examiner dans chaque tube et après on ajoute à chacun 0 cc. 9 d'un des mélanges suivants :

TABLEAU N° 6

Tubes	Antigène	Complément 1/20	Sol. phys.
1.....	0,4 1/20	1 dose hémol.	jusqu'à 0,9
2.....	0,4 »	1 1/2 » »	» »
3.....	—	1 » »	» »
4.....	—	1 1/2 » »	» »
5.....	0,4 1/100	1 » »	» »

Après un séjour d'une heure au B. M. à 37°, ajouter 1 centimètre cube de globules rouges sensibilisés. Séjour au B. M. à 37° jusqu'à l'obtention de l'hémolyse totale dans les tubes 3 et 4.

Exemple : Si le titrage du complément nous a donné 0 cc. 18 (une dose hémolytique de complément) on procédera comme ci-dessous : (voir tableau n° 7).

TABLEAU N° 7

Tubes	1	2	3	4	5
Sérum suspect ch. à 56°	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antigène 1/20	0,4	0,4	—	—	—
Antigène 1/100	—	—	—	—	0,4
Complément 1/20	0,18	0,27	0,18	0,27	0,18
Eau salée à 8,5 0/00.....	0,32	0,23	0,72	0,63	0,32
1 heure au B. M. à 37°					
G. R. S.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.	1 cc.
Lecture à partir de 5'					

Nous pouvons résumer l'interprétation des résultats dans le tableau ci-après :

TABLEAU N° 8

Sérum n°	Tubes					Résultat
	1	2	3	4	5	
1.....	0	0	H	H	0	++
2.....	0	1/4 H	H	H	0	++
3.....	0	1/2 H	H	H	0	++
4.....	0	H	H	H	0	+
5.....	1/2 H	H	H	H	0	+
6.....	3/4 H ou H p. T.	H	H	H	1/4 H	+
7.....	3/4 H ou H p. T.	H	H	H	1 2 H	±
8.....	H p. T.	H	H	H	3/4 H ou H p. T.	—
9.....	H	H	H	H	H	—

O = absence d'hémolyse.
H = hémolyse totale.
H p. T. = hémolyse presque totale.

Réaction de B. W. par E. Debains

M. DEBAINS est l'auteur d'une méthode de B. W. très simplifiée. Nous avons voulu comparer sa sensibilité et sa spécificité avec les réactions de floculation et les deux réactions B. W. standard traitées précédemment. Les heureux résultats obtenus et la simplicité de la technique nous autorisent à la ranger parmi les meilleures R. B. W.

MATÉRIEL SPÉCIAL

a) Pipettes capillaires graduées à 0 cc. 125 : 0 cc. 025.

b) Tubes à réaction de 8 centimètres cubes de hauteur sur 8 millimètres de diamètre.

c) 2 vases cylindriques en verre de Bohême à fond bien plat, 7 cm. 5 de hauteur sur 4 centimètres de diamètre.

d) Cuve en zinc, placée dans une caisse en bois à parois garnies de matière isolante.

e) 10 verres cylindriques (modèles Nicolle).

f) Rhéomètres de Vernes.

RÉACTIFS

a) *Extrait D.* — *Composition* : Soluté alcoolique de lipoides de cœur de bœuf insolubles dans l'acétone,

additionnée de cholestérine (0 gr. 4 ‰). Nous avons employé l'antigène fabriqué et contrôlé par l'auteur.

b) Mode de dilution. Dans un des deux verres cylindriques (voir matériel *c*), on introduit 0 cc. 5 d'extrait et dans l'autre 30 centimètres cubes d'eau physiologique. Verser d'un seul coup l'eau sur l'antigène, puis sans interruption, transvaser le mélange d'un verre à l'autre de 6-8 fois. On laisse *murir* cinq minutes. On obtient ainsi un liquide clair transparent, à peine opalin, dilué à 1 pour 60.

Sérums. Centrifugés et inactivés 56° à 30'.

Eau Physiologique. Solution de chlorure de Na à 9 grammes pour 1.000. Cette solution doit avoir un Ph = 5,4 ou rouge de méthyle.

Hématies de mouton. Le sang de mouton, défibriné est lavé à plusieurs reprises et ramené à son volume primitif par addition d'eau physiologique. La quantité de celle-ci est obtenue en multipliant le volume des globules rouges purs par le coefficient 2,8 ; ainsi si l'on veut ramener 10 centimètres cubes G. R. purs au volume primitif du sang il suffit d'ajouter 28 centimètres cubes d'eau physiologique (DEBAINS).

Complément. Obtenu par le mélange des sérums de plusieurs cobayes, six au minimum.

Il est dilué au 1/20 et employé à dose fixe, c'est pourquoi nous décrivons la technique de la réaction

avant le titrage du sérum hémolytique qui sera titré pendant la fixation du complément comme il sera dit plus loin.

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

On emploie 3 tubes pour chaque sérum.

Le premier tube sert de contrôle au titrage du système hémolytique de toute la série et renseigne sur la teneur en hémolysine naturelle de chaque sérum, car un trop grand excès d'hémolysine naturelle pourrait transformer une réaction faiblement positive en négative.

Le second tube est un témoin sérum et le TROISIÈME, est le tube à réaction.

1^{er} temps. Les sérums inactivés sont distribués dans des tubes au moyen de pipettes capillaires à la dose de 0,025 (pipette de Kahn n° 2) dans chaque tube. Tous les tubes reçoivent une dose fixe de complément (0 cc. 25 dilué au 1/20), on ajoute aux deux premiers tubes 0,125 d'eau physiologique, enfin on distribue 0,125 d'antigène dilué au 1/60 au troisième tube.

Les porte-tubes sont alors placés dans une caisse glacière où la température est à 7°-8°. Celle-ci est maintenue par addition de morceaux de glace. La durée de la fixation du complément est *d'une heure*.

S'il faut faire un grand nombre de réactions, on fera la distribution des différents éléments au moyen de rhéomètres de Vernes.

Dans ce cas on préparera deux mélanges :

1^o Complément-eau physiologique pour les deux tubes témoins.

2^o Complément-antigène pour les tubes à réaction. Ces mélanges sont préparés toujours en quantité suffisante et dans les mêmes proportions que pour la réaction.

Ainsi pour 100 réactions :

1 ^o	{ Complément à 1/20 ...	60 centimètres cubes
	{ Eau physiologique	30 »
2 ^o	{ Complément à 1/20 ..	30 »
	{ Antigène dilué à 1/40.	15 »

On prépare ces mélanges juste avant l'emploi.

La distribution est faite avec un rhéomètre de Vernes réglé à 0 cc. 375. Le premier des mélanges est destiné aux deux tubes témoins (n^o 1, n^o 2), le second au tube n^o 3.

Hémolysine. Le sérum hémolytique est titré toutes les fois que l'on fait des réactions car il est en réalité *le titrage indirect du complément*.

On prépare une première dilution mère à un taux correspondant à l'activité de l'ambocepteur.

A titre d'exemple nous indiquons les cas d'un ambocepteur faible et d'un ambocepteur très fort.

Ambocepteur faible, dilution 1/10.

Ambocepteur fort, dilution 1/500.

Dans neuf petits verres cylindriques (modèle NICOLLE) on distribue l'eau physiologique à doses décroissantes et la dilution mère à doses fixes, on

obtient ainsi les dilutions indiquées dans le tableau ci-dessous.

TABLEAU N° 8

Tubes	Eau phys.	Dilution mère		Dilutions obtenues	
		1/10	1/500		
1.....	4,5 cc.	0,5		1/100	1/5000
2.....	4	0,5		1/90	1/4500
3.....	3,5	0,5		1/80	1/4000
4.....	3	0,5		1/70	1/3500
5.....	2,5	0,5		1/60	1/3000
6.....	2	0,5		1/50	1/2500
7.....	1,5	0,5		1/40	1/2000
8.....	1	0,5		1/30	1/1500
9.....	0,5	0,5		1/20	1/1000
10.....	Dilutions mères			1/10	1/500

Titration. Sur un portoir on place dix tubes : dans chaque tube on introduit : 0 cc. 125 de chaque dilution d'ambocepteur, puis 0 cc. 25 de complément au 1/20 et 0,125 de la suspension d'antigène. Bien agiter, et ajouter 0,125 de globules rouges à 20 %.

Les tubes sont immergés dans un B. M. à 37° pendant 15', on place ensuite le portoir sur la table et on lit immédiatement. On choisira la dilution qui donne *l'hémolyse complète*, une dose hémolytique qui donnerait un louche même très faible ne conviendrait pas : en se conformant à cette règle on n'obtiendra jamais de réaction non spécifique.

Pour effectuer le 2^e temps de la réaction, on prépare 2 suspensions globulaires.

La première est une suspension de globules rouges à 20 % diluée de moitié avec de l'eau physiologique et servira pour le premier tube témoin (tube n° 1).

La deuxième est une suspension de globules rouges à 20 % diluée à parties égales avec du *sérum hémolytique au titre trouvé*. Elle doit être le double de la quantité précédente puisque l'on s'en sert pour les tubes n° 2-n° 3 ; ces dilutions seront préparées comme suit :

1 ^o	}	Globules rouges 20 %	0,125 × N
		Eau physiologique	0,125 × N
2 ^o	}	Globules rouges 20 %	0,125 × 2 × N
		Ambocepteur titré	0,125 × 2 × N

N = nombre de réactions.

(suite de la technique de la réaction)

2^e temps. Après une heure de séjour dans la cuve glacière, les portoirs sont placés sur la table et au moyen d'un rhéomètre de Vernes réglé à 0 cc. 25, on distribue les G. R. S. (la sensibilisation est effectuée immédiatement avant la distribution).

TABLEAU N° 9

Tubes	1	2	3
Sérum 56°	0,025	0,025	0,025
Complément 1/20	0,25	0,25	0,25
Eau salée 9° 00	0,125	0,125	—
Antigène 1/60	—	—	0,125
1 heure dans une cuve glacière à 7°-8°			
Globules rouges 20 %	0,125	0,125	0,125
Eau physiologique	0,125	—	—
Sérum hémolytique titré	—	0,125	0,125
20' au B. M. à 37°			

Les portoirs sont introduits dans un B. M. à 37°-38° pendant 20'. Après quoi on fait la lecture selon le degré d'hémolyse dans le tube n° 3 (le tube n° 2 doit être totalement hémolysé, le tube n° 1 sera incomplètement hémolysé, celle-ci variant d'après la teneur en hémolysine naturelle.

L'intensité des réactions est exprimée par les signes habituels : +, ++, +++, +++++, selon le degré d'hémolyse *obtenu* dans le tube à réaction (n° 3).

Réaction de B. W, par R. Demanche

La méthode décrite par M. DEMANCHE n'est qu'une modification de la réaction de M. DEBAINS. Elle est fondée sur les mêmes principes : emploi d'une très faible dose du sérum suspect, un titrage unique mais précis, du système hémolytique et un contrôle par deux témoins. Elle a en outre l'avantage d'employer deux antigènes et d'être adaptée au matériel sérologique courant.

*
* * *

RÉACTIFS

Eau physiologique. 9 grammes de chlorure de sodium pour 1.000 centimètres cubes d'eau distillée.

Sérum suspect. Inactivé 30' à 56°.

Antigène simple. Composition. C'est un extrait alcoolique au 1/10 de poudre myocardique Choay préalablement épuisée par l'éther suivant la technique de KAHN.

Antigène Cholestériné. Composition. C'est l'antigène simple additionné de 0,3 % de cholestérine.

On peut remplacer l'extrait cholestériné par l'antigène Standard de KAHN dédoublé préalablement avec de l'alcool à 95° à condition de pratiquer la première dilution d'un seul coup.

On pourra également se servir de l'excellent antigène préparé par M. DEBAINS.

Mode de dilution. La dilution sera faite en deux temps :

1° Dans une éprouvette graduée de 50 centimètres cubes *propre* et sèche, on introduit par exemple 0 cc. 2 d'antigène puis on laisse tomber goutte à goutte à la vitesse de 50 gouttes à la minute et d'une hauteur de 20 centimètres environ, une quantité double d'eau physiologique (0 cc. 4). On agite doucement et on laisse mûrir pendant 10'.

2°. On complète l'éprouvette à 40 centimètres cubes avec l'eau physiologique. On obtient ainsi l'antigène dilué à 1/200.

Le mode de dilution est le même pour les deux antigènes.

Globules rouges de mouton. Globules lavés puis dilués au 1/20 (5 %).

Sérum Hémolytique. (Titrage préalable). L'activité de l'ambocepteur doit être déterminée une fois pour toutes pour chaque provision de sérum hémolytique.

a) On fait une série de dilutions du sérum hémolytique de $1/10$ jusqu'à $1/100$.

b) A l'aide de la pipette de KAHN n° 3 (dont chaque division mesure 0 cc. 0125) on distribue successivement dans 10 verres à Nicolle (voir matériel DEBAINS page 46) 6 divisions de chaque dilution, puis on ajoute dans chacun d'eux, 7 cc. 5 de globules rouges à 5 %.

c) Dans 10 tubes à réaction on met 0 cc. 3 de complément dilué au $1/20$, puis 0 cc. 3 d'eau physiologique, puis dans chacun des tubes respectivement 0 cc. 6 de chacune des 10 émulsions de globules rouges sensibilisés.

d) Les tubes sont plongés dans un B. M. à 37° pendant 20' au bout de ce temps on choisira la plus petite dose de S. H. que donne l'hémolyse complète.

Ainsi par exemple, si c'est le tube n° 3 on doit toujours employer ce sérum hémolytique au $1/30$.

Complément. Il est employé toujours à doses fixes (1) dilué au $1/20$. (Dans le cas où l'alexine a un pouvoir faible on le dilue au $1/15$).

(1) Nous remercions M. DEMANCHE de toutes les indications et conseils qu'il a bien voulu nous fournir au sujet des quelques modifications apportées dernièrement à sa réaction.

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

4 tubes pour chaque sérum : 2 tubes à réaction, un pour l'antigène simple (tube 2) l'autre pour l'antigène cholestériné (tube 3) ; 2 tubes témoins : le premier (tube 1) sera un tube pour savoir si un excès d'hémolysène naturelle est capable de donner un résultat négatif à tort ; le second (tube 4) est un témoin sérum ordinaire. 2 tubes contrôle pour chaque antigène sont ajoutés à chaque série de réactions.

1^{er} Temps. Préparation des antigènes activés et de l'eau physiologique activée.

1^o On mélange à parties égales l'antigène simple et le complément dilué au 1/20, en quantités suffisantes pour la totalité des réactions à effectuer et pour le titrage du système hémolytique. Pour calculer la quantité de chaque élément, il suffit de multiplier le nombre des réactions par 0 cc. 3, quantité employée pour chaque élément.

Nous conseillons de préparer toujours ces mélanges en quantité légèrement supérieure au nombre réel de réactions.

On appelle ce mélange : « Antigène simple activé ».

2^o Même manipulation que pour l'antigène simple mais avec l'antigène cholestériné : « Antigène cholestériné activé ».

3° On mélange à parties égales l'eau physiologique et le complément 1/20 : « Eau physiologique activée ». Le volume de ce dernier mélange doit être préparé en double quantité, car, tandis que les deux premiers mélanges ne sont utilisés que pour un seul tube, ce dernier est destiné au deux tubes témoins.

Distribution. On distribue 0 cc. 05 du sérum suspect inactivé dans chaque tube. On distribue ensuite « L'eau physiologique activée » au moyen d'un rhéomètre de Vernes gradué à 0 cc. 6, dans les tubes 1 et 4 (tubes témoins). La même quantité d'« Antigène simple activé » au tube 2 et en dernier 0 cc. 6 de l'« Antigène cholestériné activé » toujours avec le même rhéomètre, au tube 3 (Voir tableau n° 10 page 59).

Enfin dans deux tubes ne contenant pas de sérum on met 0 cc. 6 de chaque mélange d'antigène activé témoins antigène).

Fixation. La fixation à l'étuve à 37° n'offre aucun avantage ; elle a au contraire l'inconvénient d'altérer le complément. La fixation à basse température (+ 4°) donne des réactions très intenses : elle renforce les réactions faiblement positives, mais elle provoque parfois des réactions non spécifiques.

Nous laissons simplement les tubes sur la table du laboratoire pendant 45' (DEMANCHE).

TITRAGE DU SYSTÈME HÉMOLYTIQUE

Ce titrage est pratiqué chaque fois que l'on fait des réactions. Il sera fait pendant les 45' d'inter-

valle entre le premier et le second temps de la réaction.

a) Dans 6 petits verres à Nicolle on distribue à doses croissantes le sérum hémolytique dilué (selon le titré indiqué par le titrage préalable) on met 1, 2, 4, 6, 8, 10 divisions de la pipette de ΚΑΗΝ n° 3 et on ajoute à chacun d'eux 7 cc. 5 de globules rouges à 5 %.

b) Dans une série de 6 tubes à réaction, on met (à l'aide du même rhéomètre qui a servi pour pratiquer les réactions) 0 cc. 6 d'« antigène simple activé », puis respectivement 0 cc. 6 de chacune des 6 émulsions de globules rouges à sensibilisation croissante.

c) Une autre série de 6 tubes est faite avec l'« antigène cholestériné activé (1).

d) Les tubes sont immerger dans un B. M. à 37° pendant 20' ; après ce laps de temps on cherche en allant de gauche à droite le dernier tube qui n'offre pas d'hémolyse appréciable et le premier qui soit *complètement et franchement* hémolysé. Nous avons déterminé ainsi deux quantités d'hémolysine : l'une inférieure qui est la quantité maxima insuffisante et l'autre supérieure qui est la quantité minima suffisante. L'écart entre ces deux quantités est normalement de 1 à 4.

(1) Il faut savoir que : 0 cc. 6 de chaque émulsion de globules rouges sensibilisés contient respectivement 0,001, 0,002, 0,004, 0,006, 0,008, 0,01 de sérum hémolytique au titre employé.

SENSIBILISATION DE GLOBULES ROUGES

Deux suspensions de globules rouges sensibilisés sont nécessaires. Une des suspensions sera sensibilisée avec la dose maxima insuffisante, l'autre avec la dose minima suffisante :

La première est destinée au tube témoin n° 1, la seconde aux tubes 2, 3, 4. Supposons que la dose insuffisante soit au tube 2, et la dose minima suffisante au tube n° 8 ; nous avons dit que le tube n° 2 contenait 0 cc. 6 de globules rouges à 5 % et 0 cc. 002 du sérum hémolytique titré, et que le tube n° 8 contenait 0 cc. 6 de G. R. et 0 cc. 008 d'hémolysine, il suffira donc de multiplier 0, 002 et 0,6 par N (nombre de réactions) pour savoir les quantités de sérum hémolytique et de globules pour préparer le premier mélange. Pour la dose *minima suffisante* il faudra multiplier par 3 N.

Exemple :

Globules sensibilisés faibles	$\left\{ \begin{array}{l} 0,002 \times 60 = 0 \text{ cc. } 12 \\ 0,6 \times 60 = 26 \text{ cc. } \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{quantités nécessaires} \\ \text{pour 60 réactions} \end{array} \right.$
Globules sensibilisés forts	$\left\{ \begin{array}{l} 0,008 \times 180 = 1 \text{ cc. } 44 \\ 0,6 \times 180 = 108 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{quantités nécessaires} \\ \text{pour 60 réactions} \end{array} \right.$

On introduit dans une fiole de FOURNEAU d'abord le sérum hémolytique puis d'un seul coup les globules et bien agiter.

(suite de la réaction)

2^e Temps. Distribuer, toujours avec le même

rhéomètre, 0 cc. 6 de la première émulsion dans tous les tubes 1 et 0 cc. 6 de la seconde dans tous les tubes 2, 3, 4 et dans les deux témoins antigènes.

Plonger tous les tubes pendant trente minutes dans un B. M. à 37°.

TABLEAU N° 10

Tubes	1	2	3	4
Sérum suspect 56°.....	0,05	0,05	0,05	0,05
Eau physiologique activé. . .	0,6	—	—	0,6
Antigène simple activé	—	0,6	—	—
Antigène cholestériné activé. .	—	—	0,6	—
45' sur la table du laboratoire				
G. R. sensibilisation faible..	0,6	—	—	—
G. R. sensibilisation forte ..	—	0,6	0,6	0,6
30' au B. M. à 37°				

LECTURE

Faire la lecture dès que les témoins antigènes et le tube (témoin sérum) de chaque réaction sont complètement hémolysés, le tube 1 ne devant présenter au plus qu'une trace d'hémolyse. On est assuré ainsi que le système hémolytique est exactement titré et ne pêche ni par défaut ni par excès d'activité, la valeur des réactions négatives étant garantie par l'absence d'hémolyse au tube 1 et celle des réactions positives par l'hémolyse du tube 4.

L'intensité des réactions positives est suffisamment appréciée à l'examen direct par le degré d'opacité des tubes et distinguée en 3 degrés : +, ++ et +++ . La lecture est d'une grande netteté et les résultats douteux ($\pm$) sont tout à fait exceptionnels.

CHAPITRE II

RÉACTIONS D'HÉMOLYSE A SÉRUM FRAIS

Réaction de Hecht

La méthode préconisée par HECHT (1908) a été modifiée par un nombre considérable d'auteurs (BAUER, HALLION, WUNBERG, MUTTERMILCH, REINAUD, ESCHBACH, TILMON, RONCHÈSE, RUBINSTEIN, etc. etc.).

Quelques-unes de ces méthodes donnent des résultats remarquables : telle la méthode de RUBINSTEIN, néanmoins nous avons choisi la réaction de MUTTERMILCH qui est la plus répandue en France. C'est la méthode pratiquée à l'Institut Pasteur de Paris et au laboratoire central de sérologie de l'Institut Alfred FOURNIER.

RÉACTIFS

Eau physiologique. 8,5 pour 1.000.

Sérums. Les sérums humains soumis à l'examen seront centrifugés et employés à l'état *frais*.

Globules rouges de mouton. Les globules sont lavés et dilués au 1/20 (5 pour 100) dans l'eau physiologique.

Antigène. L'antigène de BORDET et RUELENS sera dilué dans des proportions variant entre 1/20-1/40 (il est préférable de le titrer et de le comparer avec un antigène déjà éprouvé).

Mode de dilution. Pour préparer la dilution de l'antigène dans l'eau physiologique, il faut ajouter l'eau à l'antigène, d'abord très lentement, goutte à goutte en agitant constamment l'émulsion. Quand la quantité d'eau ajoutée a déjà atteint 2 ou 3 fois le volume de l'antigène on peut continuer avec moins de précaution un peu plus rapidement, mais en agitant toujours le mélange.

TECHNIQUE DE LE RÉACTION

6 tubes à réaction sont nécessaires pour chaque sérum : 3 tubes serviront pour la fixation du complément et les 3 autres pour la détermination de l'index hémolytique.

1^{er} temps. On distribue dans chaque tube 0 cc. 1 du sérum à l'état frais. On ajoute aux trois premiers tubes respectivement 0 cc. 3, 0 cc. 6, 0 cc. 9 (1) d'une suspension de globules de mouton à 5 %. L'antigène

(1) Les doses de 0,3, 0,6, 0,9 sont beaucoup trop élevées, aussi il vaut mieux les remplacer par 0,2, 0,4, 0,6.

La lecture sera faite selon le degré d'hémolyse dans les tubes 4-5 ; le 6^e étant le témoin sérum doit être totalement hémolysé (sauf dans les cas où il s'agit d'un sérum anti-complémentaire). On marque les résultats par les signes : —, $\pm$, +, ++.

CHAPITRE III

RÉACTIONS DE FLOCCULATION

Réaction de Kahn-Standard

INTRODUCTION

La réaction de flocculation de KAHN, qui à l'heure actuelle a pris une place prépondérante dans le diagnostic sérologique de la syphilis, est une réaction très sensible et d'une technique facile.

MATÉRIEL :

a) Tubes à réaction (3 par sérum) longueur 7 cm. 5, diamètre intérieur 1 centimètre, épaisseur 1 millimètre.

b) Supports métalliques avec trois rangées de 10 tubes.

c) Appareil à agitation mécanique (moteur électrique) de modèle variable suivant qu'il reçoit trois à six supports. L'important est qu'il donne 275-285 oscillations par minute avec un déplacement de 3 cm. 5 à 4 cm.

d) Tubes à fond plat pour préparation de la suspension colloïdale. Longueur 5 cm 5, largeur 1 cm 5.

e) Pipettes pour la distribution de la suspension colloïdale, il faut quatre graduations :

0, 05 (1/20) ; 0, 025 (1/40) ; 0, 0125 (1/80) ; 0,01 (1/100).

f) Loupe de grossissement 16 ou, miroir de microscope.

RÉACTIFS

a) *Antigène. Composition* : Extrait alcoolique de cœur de bœuf cholestériné, épuisé probablement par l'éther.

b) *Préparation* : Nous avons employé l'antigène préparé en France par M. DEBAINS.

c) *Mode de dilution* : La dilution de l'antigène consiste à mélanger l'antigène avec la solution physiologique dans les proportions indiquées par le titrage, ainsi si les proportions sont de 1 centimètre cube d'antigène et 1 cc. 2 de solution physiologique, on opère de la façon suivante :

a) Mettre 1 centimètre cube d'antigène dans un tube à fond plat puis dans un tube semblable mesurer 1 cc. 2 d'eau physiologique.

b) Verser aussi rapidement que possible *la solution salée sur l'antigène*, sans attendre la dernière goutte, continuer à les mélanger en répétant le transvasement d'un tube dans l'autre de 6-8 fois. Laisser « mûrir » 10 minutes. La distribution de doses

de suspension colloïdale et du sérum devra être terminée en 20 minutes. On ne doit jamais employer moins de 1 centimètre cube et plus de 2 centimètres cubes d'antigène pour le mélanger avec des quantités correspondantes d'eau physiologique.

Eau salée à 9 pour 1.000. — Pour préparer l'eau physiologique, introduire dans une éprouvette graduée 9 grammes de chlorure de Na anhydre chimiquement pur (1) et compléter à 1.000 centimètres cubes avec de l'eau bidistillée *neutre*.

Nous avons employé pour diluer l'antigène de l'eau salée à 9 pour 1.000 dans l'eau bidistillée au Ph. 5,4 et gardée dans un verre neutre (Verre d'léna).

Sérum humain. Le sérum doit être inactivé par chauffage au B. M. à $+ 56^{\circ}$ pendant 30 minutes.

Lorsqu'un sérum a été déjà inactivé puis conservé à la glacière il est nécessaire de le réchauffer pendant 10 minutes avant de faire une nouvelle réaction.

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

Cette réaction est pratiquée dans 3 tubes, chacun contenant des proportions différentes d'antigène et de sérum : (voir tableau n° 12).

(1) Il est indispensable d'avoir des produits chimiques d'une pureté absolue (chlorure de Na Poulenc Type Congre 1922).

TABLEAU N° 12

Tubes	1	2	3
Suspension d'antigène	0,05	0,025	0,0125
Sérum	0,15	0,15	0,15
Proportion	1-3	1-6	1-12

1^{er} temps. a) *Préparation de la suspension* (voir ci-dessus).

2^e temps. b) *Répartition de la suspension colloïdale*. Après les 10 minutes de maturation on agite doucement le mélange afin d'obtenir une suspension homogène. Ensuite, on distribue au moyen de pipettes capillaires aux doses suivantes : 0 cc. 05 dans le 1^{er} tube, 0 cc. 025 dans le 2^e et 0 cc. 0125 dans le 3^e.

« Il faut introduire la pipette jusqu'au fond du tube car, de si petites quantités de suspension déposées sur la paroi du tube risqueraient de se dessécher avant d'atteindre le fond (DEMANCHE) ».

3^e temps. *Distribution du sérum*. Le sérum est distribué immédiatement après l'antigène, pour éviter l'évaporation de ce dernier, au moyen d'une pipette de 1 centimètre cube graduée à 0 cc. 01, à la dose de 0 cc. 15 pour chacun des 3 tubes.

4^e temps. *Séjour à l'étuve*. Il est utile de mettre pendant 10-15 minutes les supports à l'étuve à 37° pendant la saison froide.

5^e temps. *Agitation.* Les porte-tubes sont placés sur le cadre de l'agitateur mécanique spécial et agités pendant 3 minutes à raison de 275-285 oscillations par minute.

6^e temps. Retirer les portoirs de l'agitateur et distribuer soit à la pipette soit au rhéomètre de VERNES 1 centimètre cube d'eau salée à 9 pour 1.000 dans le tube contenant 0 cc. 05 de suspension colloïdale (1^{re} rangée du portoir) et 0 cc. 5 dans les deux autres tubes (2^e et 3^e rangées de tubes) (1).

TABLEAU N^o 13

Tubes	1	2	3
Suspension colloïdale	0,05	0,025	0,0125
Sérum inactivé	0,15	0,15	0,15
Agiter pendant 3 minutes			
Eau physiologique	1 cc.	0 cc. 5	0 cc. 5

LECTURE DES RÉSULTATS

Pour chacun des tubes, la lecture des résultats est faite immédiatement après addition de la solution saline.

(1) N. B. On doit suivre rigoureusement l'ordre des temps de la réaction indiquée ci-dessus.

Dans chaque série de réaction il est utile de l'encadrer de deux sérums connus : positif et négatif qui servent de témoins.

Les conditions nécessaires pour faire une bonne lecture sont les suivantes :

Si on utilise la lumière naturelle, il est indispensable d'être éclairé par une seule fenêtre.

L'on peut utiliser également comme source de lumière les faisceaux qui sortent par une fente d'une boîte où est placée une lampe électrique. Chaque observateur doit se limiter à une seule méthode de lecture (Nous préférons la lumière naturelle).

On marquera pour chacun des trois tubes :

++++ (réaction fortement positive) lorsqu'il y a formation de gros flocons séparés les uns des autres flottant dans un liquide limpide, visibles à l'œil nu.

+++ flocons moins volumineux avec liquide toujours clair.

Pour les réaction faiblement positives (++ et +) la lecture se fera à la loupe (grossissement 16) ou au miroir du microscope.

On place les tubes inclinés au-dessus d'un miroir concave à la distance de 5 à 7 cm 5.

Les images ainsi augmentées seront marquées ++ toutes les fois qu'il y a des granulations nageant dans un liquide plus ou moins louche et + des granulations fines, sous forme de poussières qui nagent dans un liquide opalescent.

Dans le cas où l'on remarque un liquide louche avec des particules à peine visibles, la réaction est douteuse ($\pm$).

Les réactions négatives (—) sont celles qui pré-

sentent un liquide clair transparent sans aucun flocculat en suspension.

Nous avons adopté la méthode préconisée par M. DEBAINS qui consiste à faire la lecture avec une loupe, voici ce qu'il écrit : « Les meilleurs résultats seront obtenus en adoptant la technique suivie pendant des années au laboratoire du regretté Professeur M. NICOLLE pour l'étude de l'agglutination : les tubes seront examinés avec une loupe de *grossissement 16 faisant corps avec l'œil* ; le tube à examiner est tenu de la main gauche au-dessus de la loupe, presque horizontalement et dirigé sur un fond obscur (mur), l'éclairage du jour ou l'éclairage artificiel étant oblique ; on arrive rapidement à découvrir l'orientation convenable, et on est agréablement surpris par la netteté et la beauté des lectures effectuées, l'appréciation des intensités est beaucoup plus précise surtout pour les réactions faiblement positives ».

Résultat final : Il sera la moyenne des résultats individuels (voir tableau n° 14).

Dans des cas tout à fait exceptionnels (sérum très fortement positif), les réactions peuvent être atypiques donnant des résultats fortement positifs dans le premier tube et faiblement ou même négatifs dans les deux autres tubes.

TABLEAU N° 14

RÉSULTAT FINAL

Sérum n°	1	2	3	
1.....	++++	++++	++++	
2.....	+++	++++	++++	++++
3.....				
4.....	+	++++	++++	
5.....	—	++++	++++	+++
6.....	+	+	+	
7.....	—	—	—	
8.....		+	+	
9.....	+	+	+	++
10.....	—	++	++++	
11.....	—	+	++++	
12.....	—	±	++++	
13.....	—	—	++++	
14.....	—	+	+++	+
15.....	—	—	++++	
16.....	—	—	++	
17.....	—	±	++	
18.....	—	—	++	±
19.....	—	±	+	
20.....	—	—	+	—
21.....	—	—	—	

Réaction de présomption de Kahn

Cette méthode n'est en réalité qu'une variante de la précédente. Elle a été conçue pour servir d'auxiliaire à la réaction Standard. Sa technique ne

diffère guère de la méthode Standard, aussi nous nous bornerons à indiquer seulement les différences qui existent entre elles.

Antigène. Dans la réaction présomptive on emploie de l'antigène « sensibilisé » qui possède un degré de sensibilité plus grand que l'antigène standard. Nous avons employé avec succès l'antigène préparé en France par M. DEBAINS.

La technique de la dilution, de la répartition etc... étant identique à celle de la méthode Standard, on se rapportera à la description précédente. Cependant il faut savoir que l'on ne fait usage que d'un seul tube.

TABLEAU N° 15

Tube	1
Suspension d'antigène	0,025
Sérum chauffé à 56°	0,15
Agiter pendant 3'	
Eau salée à 90° 00	0,5

LECTURE

++++, +++ = Réaction fortement positive
 ++, + = Réaction positive
 ±, — = Réaction négative

Méthodes de Meinicke

MEINICKE est l'auteur d'une série de méthodes pour le sérodiagnostic de la syphilis, mais la plupart ont été abandonnées aujourd'hui au profit de sa dernière réaction : la M. K. R. II. Néanmoins, nous avons cru utile de faire en même temps que la réaction de clarification (M. K. R. II), la réaction d'opacification (M. T. R. III) qui jouit encore d'un certain crédit dans beaucoup de laboratoires.

Réaction d'opacification (M. T. R. III)

Cette réaction, (M. T. R. III) « MEINICKE, *Trübungsreaktion* » est fondée sur le phénomène initial de la floculation ; phénomène qui se traduit par une opacification du mélange, sérum-antigène.

L'idée originale appartient à DOLD (1921) mais MEINICKE a perfectionné la méthode en la modifiant successivement (1922-1926).

MEINICKE a eu l'idée d'ajouter un colloïde supplémentaire à l'extrait alcoolique de lipoides de cœur de cheval. Après de multiples essais comparatifs il a choisi le baume de Tolu.

RÉACTIFS

Eau salée à 3 pour 100. 3 grammes de chlorure de sodium anhydre, plus Eau distillée Q. S. pour 100 centimètres cubes.

Solution de carbonate de soude : 1 % : Solution mère : 1 gramme de carbonate de Na anhydre, plus eau salée à 3 pour 100 Q. S. pour 100 centimètres cubes.

Extrait alcoolique (1) : C'est un extrait de cœur de cheval épuisé préalablement par l'éther, et additionné de teinture de baume de tolu.

PRÉPARATION DE LA SUSPENSION COLLOIDALE

Mettre dans un tube à essais 1 centimètre cube d'antigène et dans un autre tube verser 10 centimètres cubes d'eau salée à 3 %. Porter les tubes dans un B. M. à $+ 45^{\circ}$ puis attendre que la température de 45° soit atteinte. Mélanger d'un seul coup en projetant l'eau sur l'antigène, transvaser la suspension dans le premier tube et distribuer rapidement car la préparation devient trop trouble et impropre à la réaction.

S'il faut préparer une suspension colloïdale pour un grand nombre de réactions, on fera comme suit :

A 100 centimètres cubes d'eau salée, à 3 % chauffée

(1) Les extraits contrôlés par le Professeur MEINICKE, sont préparés par : Adler Apotheke à Hagen (Westphalie) (Allemagne).

à + 45° on ajoutera 1 centimètre cube de la *solution mère* de carbonate de soude à 1 % et on mélangera avec 10 centimètres cubes d'antigène. Laisser « mûrir » dans les B. M. à 45° pendant 5 à 10 minutes avant l'emploi.

Sérums. Les sérums sont centrifugés et ne doivent pas être chauffés.

RÉACTION

Dans deux tubes, mettre 0 cc. 2 de sérum frais puis ajouter une goutte de formol à 40 % à un des tubes (tube témoin) pour empêcher la floculation (DOLD). Enfin les deux tubes reçoivent 1 centimètre cube de la suspension colloïdale encore tiède. Agiter et laisser à la température de la chambre pendant une heure.

TABLEAU N° 16

Tubes	1	2
Sérum frais	0,2	0,2
Formol 40 %	—	1 goutte
Suspension colloïdale	1 cc.	1 cc.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La lecture est faite au bout d'une heure en regardant les barreaux d'une fenêtre à travers les

tubes à réaction. En effet, dans les cas *fortement positifs*, les tubes à réaction sont devenus troubles et les barreaux invisibles.

Si les sérums sont faiblement positifs le trouble sera peu intense et on voit les barreaux comme voilés avec des contours indécis.

Les tubes à sérums négatifs resteront aussi transparents que les témoins. Une seconde lecture est faite une heure après la première, car l'opacification dans les sérums faiblement positifs ne s'opère que plus tardivement ; par contre si les sérums sont fortement positifs le trouble se produit dès les premières minutes.

Réaction de clarification (M. K. R. II)

INTRODUCTION

La réaction de clarification de MEINICKE (M. K. R. II) mérite d'être classée parmi les meilleures réactions de floculation. Ses multiples moyens de lecture : (centrifugation, floculation macroscopique et microscopique, clarification) permettent un contrôle plus exact des résultats.

Comme pour toutes les réactions, la technique doit être exécutée en se conformant rigoureusement aux indications de l'auteur.

RÉACTIFS

Solution salée à 3,5 pour 100. 3 gr. 5 de chlorure de Na chimiquement pur, plus eau distillée : Q. S. pour 100 centimètres cubes..

Solution de carbonate de soude à 1 % (Solution mère) 1 gramme de carbonate de soude anhydre dans une solution salée à 3,5 % Q. S. pour 100 centimètres cubes.

Extrait standard « Original Extrakt für Dr. MEINICKE, *Klarungs-Reaktion auf Syphilis* (M. K. R. II) » est un extrait alcoolique de cœur de bœuf (et non de cheval comme pour la M. T. R. III) il est plus riche en lipoïde et contient moins de Tolu. 1,4 %; il est additionné de bleu de Victoria 0 cc. 01 % ce qui facilite la lecture. On ne doit se servir que de l'antigène original, préparé et contrôlé par l'auteur. Il doit être gardé à l'abri de la lumière.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS

On prépare deux suspensions : l'une *neutre* et l'autre alcaline.

1° *Préparation de l'émulsion neutre.* 1 centimètre cube d'extrait est introduit dans un tube à essais, puis dans un autre tube on met 10 centimètres cubes d'eau salée à 3,5 %, ils sont alors placés dans le B. M.

utilisé pour l'inactivation des sérums. On place un thermomètre (contrôlé) dans le tube qui contient l'eau salée et on attend que la température soit à 56°. Verser l'eau sur l'antigène, reverser le mélange dans l'autre tube et le replacer au B. M. à 56° pendant 2 *minutes*. Distribuer rapidement.

2° *Préparation de l'émulsion alcaline*. Répéter la manipulation décrite ci-dessus en remplaçant les 10 centimètres cubes d'eau salée à 3 % par 9 cc. 9 d'eau salée à 3,5 % plus 0,1 de solution mère de carbonate de Na à 1 %.

La suspension doit être distribuée dès que le mélange a été fait, contrairement à la suspension neutre qu'on laisse « murir » 2' à 56°. Cette dernière modification nous a été communiquée personnellement par le Professeur MEINICKE lui-même lors de son dernier voyage à Paris en novembre 1934.

Sérums. Les sérums sont centrifugés puis employés à l'état actif.

RÉACTION

Pour chaque réaction on prend 3 tubes : dans le premier on distribue 0 cc. 2 de sérum (non chauffé), dans le deuxième la même quantité et dans le troisième 0 cc. 1 seulement. Ajouter 0 cc. 5 d'émulsion neutre dans les deux premiers tubes et 0 cc. 5 de l'émulsion alcaline dans le troisième. Agiter les portoirs.

TABLEAU N° 17

Tubes	1	2	3
Sérum frais	0,2	0,2	0,4
Emulsion neutre	0,5	0,5	—
alcaline	—	—	0,5

Aussitôt après on introduit dans chaque deuxième tube une pipette cylindrique de 15 centimètres de longueur et de 2 millimètres de diamètre. Avec cette pipette on prélève une goutte du mélange qu'on dépose sur une lame porte objet extrêmement propre. On peut disposer 10 gouttes sur chaque lame en ayant soin d'imprimer préalablement sur la lame dix carrés à l'aide d'un crayon gras. Dès qu'une lame est garnie on la place sur le support d'une chambre humide de Malassez.

Le tube n° 1 est alors centrifugé pendant 15' à raison de 1.800 tours à la minute. Si on dépasse la vitesse de 2.000 tours on risque d'obtenir avec des sérums négatifs des résultats ayant le même aspect que celui des sérums positifs. Après centrifugation on décante avec précaution en renversant les tubes. On les place ainsi renversés, le fond en haut, sur un portoir.

Note : Les sérums doivent être parfaitement clairs car la moindre trace de globules rouges peut fausser les résultats.

Interprétation des résultats

A. RÉSULTATS DE LA CENTRIFUGATION. Une demi-heure après avoir centrifugé on examine l'aspect des culots des tubes et on notera :

a) *Fortement positifs* : toutes les fois que le sédiment reste intact, sous la forme d'une pastille bien colorée et bien limitée par un bord net.

b) *Faiblement positifs* : dans les réactions où le sédiment a perdu son contour net et s'est simplement élargi et étalé sans couler le long des parois du tube.

c) *Négatifs* : quand le sédiment s'écoule le long des parois du tube.

B. RÉSULTAT DE LA MICRORÉACTION. Après un séjour d'une heure dans une chambre humide on regarde la goutte au microscope, grossissement 60 et on observe :

Dans les réactions négatives (—) le champ est homogène, de couleur gris-jaunâtre, un peu plus sombre au centre de la goutte, et formé par des fines granulations uniformément réparties.

Dans les réactions douteuses ($\pm$) les granulations sont irrégulières sans espace clair.

Dans les réactions positives : on obtient une gamme de positivité de une + jusqu'à ++++.

+ = Des petits amas, bruns clairs à peine séparés et entre eux des espaces clairs ponctués de fines granulations.

++ = Les amas sont plus gros et les espaces qu'ils laissent entre eux sont libres de toute granulation.

+++ = Des gros amas bruns presque noirs, isolés les uns des autres.

++++ = Très gros amas noirs, 5 ou 6 par champ.

Une seconde lecture est pratiquée une heure après la première, mais étant donné la grande sensibilité de l'antigène de MEINICKE on peut voir après cette seconde lecture des réactions $\pm$ devenir + non spécifiques.

Résultats de la floculation macroscopique : On regarde les tubes (n° 2- n° 3) une heure et demi après avoir effectué le mélange : Sérum-antigène.

On peut utiliser le même procédé que celui que nous avons vu à propos de la réaction Standard de KAHN, mais le liquide étant moins transparent, l'interprétation sera plus difficile, aussi est-il préférable de faire la lecture dans une chambre noire, en tenant le tube incliné presque horizontalement à mi-distance entre les yeux et une forte ampoule électrique. La lame liquide est alors examinée avec une loupe X 4.

Dans les réactions *négatives* : le liquide est jaune brunâtre, transparent, sans flocculat.

Dans les réactions *positives*, on peut voir depuis de rares flocons, sans tendance à la sédimentation (+, ++) jusqu'à des gros flocons bleuâtres granuleux et compacts, en partie déjà sédimentés nageant dans un liquide blanchâtre (+++, ++++). Le degré de coloration du liquide, le nombre, le volume et la densité des flocons permettront de distinguer les différents degrés de positivité.

*
* *

Résultats de la clarification : Cette dernière lecture est effectuée après 20 heures à l'œil nu. On observe les aspects suivants :

Réactions négatives (—) le liquide a le même aspect que la veille.

Réactions positives : Dans les cas de réactions fortement positives, la clarification est totale : il se forme un précipité au fond du tube et le liquide surnageant est clair comme l'eau de roche. Si les réactions sont moins accentuées le liquide est légèrement opalin mais conserve une transparence qui permet de distinguer un objet placé à 2 ou 3 mètres.

Le tableau ci-dessus donne la gamme de positivité que l'on peut obtenir :

TABLEAU N° 18

Sérum N°	Tube à sol. neutre	Tube à sol. alcaline	Résultat final
1.....	+	—	+
2.....	++	—	
3.....	+++	—	{ ++
4.....	++++	—	
5.....	++++	+ ou ++ ou +++	+++
6.....	++++	++++	
7.....	+++ ou ++ ou +	++++	{ ++++
8.....	—	++++ (d'après Debais)	

On peut donc voir la clarification se produire dans le tube à sol. neutre, tandis qu'elle est nulle dans le tube à sol. alcaline (sérums faiblement positifs), mais au fur et à mesure que les sérums sont plus fortement positifs le phénomène inverse se produit : Réaction d'inhibition. Dans ces cas on voit la microréaction faiblement positive ou même négative (phénomène de Zone) ils sont beaucoup plus fréquents qu'on ne le croit ; si on dilue le sérum on évite ces phénomènes et on obtient des réactions normales.

Nous dirons pour terminer que les lectures de centrifugation et de floculation sont facultatives. En pratique, on utilise seulement la microréaction et la clarification. La microréaction est beaucoup plus sensible que la macroréaction. La première est voisine de la réaction de présomption de KAHN, tandis que la seconde se rapproche de la réaction

Standard de КΛΗΝ. On peut donc pratiquer la réaction avec deux tubes seulement et obtenir une gamme étendue d'intensité.

Le résultat final sera une moyenne des résultats partiels, en tenant compte, bien entendu, du phénomène de zone et du degré de sensibilité de chaque lecture.

Réaction de Sachs-Witebsky

Cette réaction appelée aussi « Réaction au Citochol (rapide cholestérine) terme qui rappelle que l'extrait contient la cholestérine et la marche rapide de la réaction. Elle a vu le jour à la Conférence sérologique de Copenhague de 1928, puis elle fut modifiée en 1931. C'est cette nouvelle méthode que nous avons employée.

RÉACTIFS

Extrait alcoolique : Extrait alcoolique de cœur de bœuf obtenu par macération d'une partie d'organe frais dans 5 parties d'alcool. Le résidu est repris par un volume d'alcool trois fois moindre que le volume primitif et on ajoute une quantité de cholestérine variant suivant la nature de l'extrait, entre 0,3 et 0,6 % (1).

(1) Nous nous sommes servis des extraits se trouvant dans le commerce, Frankfurt-s/-M. (Allemagne). Hirschapotheke du Dr FRESSENIUS.

Dilution de l'extrait. — Un volume d'extrait est rapidement dilué avec 2 volumes d'eau salée à 3 %. Laisser « mûrir » 5' à la température du laboratoire et rajouter d'un seul coup 9 volumes d'eau salée à 3 % ; l'extrait dilué au 1/12 est tout de suite prêt à être employé.

Sérum. Inactivé pendant 30' à 56°.

RÉACTION

Pour pratiquer cette réaction on utilise des tubes de 8 centimètres de longueur $\times$ 10-11 millimètres de diamètre.

Les sérums inactivés sont répartis à la dose de 0 cc. 2 puis mélangés avec un égal volume de suspension colloïdale diluée au 1/12. Agiter pendant 3' dans un agitateur mécanique du même modèle que celui que nous avons étudié à propos de la réaction de КАHN. (Dans les cas où on ne dispose pas d'un agitateur on laisse les porte-tubes à la température de la chambre pendant 4 à 6 heures). Après quoi on ajoute 1 centimètre cube d'eau physiologique à 9‰. On fera un tube témoin pour chaque sérum, en remplaçant la suspension d'antigène par de l'eau alcoolisée au 1/12 (voir tableau n° 19).

TABLEAU N° 19

	R	T
Sérum chauffé 56°	0,2	0,2
Suspension d'antigène 1/12	0,2	—
Eau alcoolisée 1/12	—	0,2
Agiter pendant 3'		
Eau physiologique 9 0/00	1 cc.	1 cc.

LECTURE

La lecture a lieu immédiatement soit à l'œil nu, soit à l'aide d'un miroir de microscope, comme pour la réaction de KAHN.

Les réactions positives donnent un flocculat, variable quant à la grosseur et au nombre des grains (+, ++, +++, +++++).

Les sérums négatifs restent opalescents.

Il ne doit y avoir aucune floculation dans les tubes témoins.

Réaction de congglomération de Muller (M. B. R. II)

La *Ballungs-reaktion* ou réaction de congglomération est caractérisée (dans les cas positifs), par l'aspect particulier du flocculat, qui forme un congglomérat unique, de couleur blanc-jaunâtre, d'aspect

gélatineux. Cette réaction a pour origine les travaux de HECHT (1914), puis de MÜLLER, qui décrivit sa première méthode (M. B. R. I) en 1925. Elle a été modifiée en octobre 1919 (M. B. R. II) et en novembre 1932 (M. B. R. II *bis*).

Nous avons étudié attentivement la M. B. R. II avec ses variantes : la méthode de centrifugation (M. B. R. Z.) ainsi que la dernière modification l'M. B. R. II *bis* (avec emploi de la suspension d'antigène concentré etc.) et nous avons observé que ces modifications augmentent la sensibilité et la rapidité de la lecture mais au détriment de la spécificité.

Nous décrirons seulement la technique que nous avons suivie au cours de nos recherches, c'est-à-dire la M. B. R. II avec des petites quantités de sérum, (0,1 et 0,15) et lecture au bout de 24 heures. Nous n'avons pas pratiqué la méthode de centrifugation à notre avis beaucoup trop sensible. Si l'on préfère la lecture rapide, après 4 heures on remplacera les quantités de sérum (0,1 et 0,15) par 0,25 et 0,35.

RÉACTIFS

Solution de carbonate de soude. (Solution mère). Mettre dans une éprouvette graduée 3 grammes de carbonate de soude anhydre chimiquement pur et compléter jusqu'à 100 centimètres cubes avec une solution salée à 9 ‰.

Solution usuelle : (S. U.) Pour préparer cette solution

on ajoute 1 centimètre cube de la *solution mère* à 99 centimètres cubes d'eau salée à 9 ‰. La conservation de cette solution est limitée, elle peut devenir trouble par une poussée microbienne. Elle doit être gardée à la glacière et réchauffée à 17° au moment de l'emploi.

Le réactif d'agglomération II Schering (1) : est un extrait alcoolique de cœur de bœuf suffisamment cholestériné et ensuite concentré.

Mode de dilution : La dilution se fait en deux temps :

1^{er} temps. — On verse 2 centimètres cubes d'antigène dans un tube de 16 millimètres de diamètre et d'une hauteur d'environ 90 millimètres. Avec une pipette ajouter 3 centimètres cubes de S. U. (solution usuelle) à une température de 17°. La dilution doit être faite en laissant couler la S. U. le long de la surface intérieure du tube dans le temps de 3 secondes. (Si la vitesse d'écoulement de la pipette est de 4 ou 5 secondes, les antigènes agissent plus lentement). Laisser « mûrir » 12 minutes à la température du laboratoire.

2^e temps. — Après, transvaser la suspension colloïdale dans un petit bocal sec de 50 millimètres de diamètre, ajouter d'un seul coup rapidement 25 centimètres cubes de S. U., toujours à la température de 17°.

(1) Le réactif est préparé par SCHERING-KAHLBAUM, A. G., Berlin.

« Il est indispensable d'observer rigoureusement les prescriptions qui se rapportent aux diamètres et mesures des verres, de la température de la solution saline, etc... car une augmentation de la température de la S. U. à 20° peut déjà aboutir à une légère altération des résultats » (R. MÜLLER).

TECHNIQUE DE LA M. B. R. II

Les sérums sont distribués à l'état frais dans deux tubes de 8 millimètres (diamètre intérieur) (pas au-dessous de 7 mm. 5 et pas au-dessus de 9 millimètres) aux doses de 0 cc. 1-0 cc. 15 puis mis au *B. M.* à 55-56°, pendant 15 à 20 minutes.

Après on ajoute dans chaque tube 0 cc. 5 de la suspension d'antigène. Bien mélanger en basculant chaque tube. Ils sont alors remis au *B. M.* à 55-56° pendant 15 minutes. Après la sortie du *B. M.* on les place à la température du laboratoire. La lecture du résultat sera faite le lendemain (16 à 24 heures) ou (4 heures pour les doses de 0,25 et 0,35 de sérum).

Dans les cas positifs on voit un congglomérat unique de couleur blanc ou blanc jaunâtre flottant à mi-hauteur de la colonne liquide. Les cas donnant des agglomérés nets même avec une dose de 0 cc. 1 doivent être considérés comme complètement positifs (+++, ++). On marque une + pour les cas où il se forme une agglomération nette dans le tube à 0 cc. 15 mais avec des flocons ou des nuages dans le tube à 0 cc. 1. Les réactions $\pm$ sont celles qui

donnent, même avec la dose supérieure (0,45) des formes nuageuses, mais pas complètement agglomérées. Les sérums négatifs se distinguent par leur aspect homogène, avec exceptionnellement des points de précipitation qui ne peuvent être confondus avec l'agglomération positive.

Réaction de Vernes

La réaction publiée en 1921 par VERNES, BRICQ et YVON et intitulée réaction de VERNES, est une réaction de floculation, très courante, et très utilisée dans les laboratoires de France.

Elle présente cet avantage d'être restée très stable, elle n'a subi aucune modification, contrairement à toutes les méthodes que nous avons étudiées.

MATÉRIEL SPÉCIAL

Appareil mélangeur ;

B. M. à $+ 25^{\circ}$;

Photomètre de VERNES, BRICQ et YVON.

Rhéomètre de VERNES.

RÉACTIFS

1^o *Eau bi-distillée*. — L'eau bi-distillée doit être préparée avec un appareil en verre vert sans raccord de caoutchouc, ni bouchon de liège et conservée moins de trois jours dans des flacons également en verre vert.

2^o *Sérums suspects*. Les sérums sont centrifugés et décantés une deuxième fois dans un autre tube pour éliminer complètement les globules rouges. Les porter dans un B. M. à 55° pendant 30'. La température de 55° ne doit jamais être dépassée. Après les 30' les sérums sont retirés du B. M. et laissés à refroidir dans le laboratoire pendant dix minutes.

3^o *Eau alcoolisée au 1/6,5*. — Eau bi-distillée 16 cc. 5 pour 3 centimètres cubes d'alcool absolu.

4^o *Antigène*. — (Nom commercial = Péréthynol).

a) *Composition*. Extrait alcoolique de cœur frais de cheval.

b) *Préparation de la suspension*. Le laboratoire doit être chauffé longtemps à l'avance et la température maintenue constante. Tout ce qui sert à la préparation de la suspension doit avoir séjourné suffisamment dans la pièce pour être en équilibre de température avec elle. Les manipulations se font à 20°, on peut cependant, suivant les conditions locales, manipuler à une température différente, entre 18 et 25°, sans que cela entraîne une grande variation dans les résultats.

Le péréthynol est dilué au $1/6,5$, c'est-à-dire : $1 + 5,5$ dans l'eau bi-distillée, au moyen de l'appareil mélangeur. Cette dilution se fait en deux temps :

1° On dilue le péréthynol au $1/3$ ($1 + 2$ d'eau). Dans un verre cylindrique à fond plat de 30 millimètres de diamètre intérieur, introduire 6 centimètres cubes d'eau bi-distillée, descendre l'hélice dans le verre, de manière qu'elle soit entièrement recouverte d'eau sans toutefois qu'elle touche le fond. Mettre en marche le moteur du mélangeur de façon que la vitesse de rotation de l'hélice soit de 200 tours à la minute. A ce moment ajouter 3 centimètres cubes de péréthynol au moyen de la pipette de 3 centimètres cubes dont l'écoulement est réglé par un robinet spécial à un centimètre cube par minute. Les gouttes de péréthynol doivent tomber dans l'eau d'une hauteur de 3 à 4 centimètres et ne doivent toucher ni les parois du verre ni la tige de l'hélice.

2° Solution définitive, ($1/6,5$). Enlever la pipette et verser en filet mince 10 cc. 5 d'eau bi-distillée ; alors seulement arrêter l'agitateur.

La suspension doit être employée dans les deux heures qui suivent sa préparation et seulement après avoir repris la température du laboratoire la dilution ayant produit un échauffement.

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

On dispose deux tubes : Un tube à réaction et un tube témoin.

On distribue 0 cc. 8 du sérum dans chaque tube à l'aide d'un rhéomètre réglé à 0 cc. 4 (2 cylindrées). Le rhéomètre doit être rincé dans l'eau courante, puis dans l'eau salée à 9 ‰ entre la distribution d'un sérum à l'autre. Ajouter, dans un des deux tubes 0 cc. 4 de la suspension de péréthynol et dans l'autre (témoin) 0 cc. 4 d'eau alcoolisée au 1/6,5.

Agiter soigneusement les porte-tubes plusieurs fois s'il est besoin pour assurer le mélange intime des deux liquides, ne pas boucher les tubes avec le doigt pour les agiter par renversement. Boucher les tubes avec des bouchons en caoutchouc et les placer pendant 4 heures dans un B. M. à + 25°.

LECTURE

Les lectures des résultats se font dans le laboratoire à une température constante. La floculation se manifeste par un trouble perceptible le plus souvent à l'œil nu. On la mesurera par la différence de densité optique constatée au photomètre entre le tube témoin et le tube à réaction.

Les chiffres indiqués par le photomètre seront interprétés comme suit :

0 à 3 = Réactions négatives.

4 à 8 = » douteuses.

9 et au-dessus = Réactions positives.

DEUXIÈME PARTIE

- I. — *Tableaux montrant les résultats détaillés obtenus par les diverses méthodes sérologiques.*
- II. — *Tableaux donnant un résumé des résultats obtenus par la comparaison des diverses méthodes sérologiques.*
- III. — *Conclusions.*

REMARQUES SUR LES TABLEAUX CI-APRÈS

Il est à observer que, dans les tableaux ci-après, les réactions ont été marquées conformément aux conclusions de la Conférence sur le séro-diagnostic de la syphilis, tenue à Copenhague en 1928. C'est ainsi que tous les sérums nous ayant donné ++++ et +++ ont été marqués ++ et ceux qui ont donné ++ et + nous les avons désignés +.

Les résultats obtenus avec les réactions de Vernes ont été désignées par les chiffres indiqués au photomètre, cependant nous avons marqué du signe négatif (—) toutes les réactions ayant donné un in-

dice variant entre 0 et 3 pour éviter des erreurs avec le signe 0 = la réaction n'a pas été faite. Dans les tableaux donnant un résumé des résultats et dans la planche n° 1 nous avons rangé, *tout arbitrairement d'ailleurs*, dans la colonne à ++ tous les sérums ayant donné un indice supérieur à 20 ; nous avons compris dans la colonne à une + ceux qui ont donné entre 9 et 19 et dans celle de ± les réactions comprises entre 4 et 8.

Nous avons vu au chapitre des techniques que certaines réactions constituent en réalité des réactions multiples : multiplicité qui est conditionnée par l'emploi soit de deux antigènes (DEMANCHE) soit de deux dilutions du même antigène (SORDELLI), soit de deux doses de complément (WYLER) ou bien par l'emploi de deux suspensions colloïdales (MEINICKE).

Pour cette raison nous donnons dans les tableaux qui vont suivre les résultats détaillés, de chacune de ces réactions, afin qu'on puisse les comparer entre eux, mais dans la *planche n° 1*, nous ne tenons compte, pour le pourcentage des résultats positifs, que des résultats globaux définitifs établis conformément aux auteurs.

ABRÉVIATIONS

- R. B. W. : Réactions de Bordet-Wassermann.
R. S. F. : Réactions à sérum frais.
Db. : Debains.
M. K. RH : Meinicke clarification
M. T. R. : Meinicke Opacification (M. T. R. III).
S. W. : Sachs-Witebsky.
M. B. R. : Muller (M. B. R. II).
As. : Antigène simple (non cholesteriné).
Ach. : Antigène cholesteriné.
1/20 : Correspond au tube d'antigène dilué au 1/20.
1/100 : Correspond au tube d'antigène dilué au 1/100.
3 D. : Correspond au tube contenant 3 D. M. H.
5 D. : Correspond au tube contenant 5 D. M. H.
C. : Lecture effectuée par la centrifugation.
M. : Lecture effectuée par la microréaction.
Cl. n. : Lecture de clarification dans le tube à solution neutre.
Cl. a. : Lecture de clarification dans le tube à solution alcaline.
R. : Résultat final.
a. c. : Réaction anticomplémentaire.
++ : Réaction fortement positive.
+ : Réaction positive.
± : Réaction ni positive ni négative.
— : Réaction négative.
O. : La réaction n'a pas été pratiquée.
L. : Syphilis latente.
H. : Syphilis héréditaire.
P. G. : Paralysie générale.
Tub. : Tuberculose pulmonaire.
Arturo Ravelo.

canc : . cancer

Grav. : Femme gravide.

● : Malade non traité.

●t : Malade traité.

(S) : Malade suspect au point de vue spécifique.

I. — TABLEAUX MONTRANT LES RÉSULTATS
DÉTAILLÉS OBTENUS PAR LES DIVERSES
MÉTHODES SÉROLOGIQUES.

TABLEAU I

N°	R - B - W						R S-F	Réactions de Flocculation											
	Demanche		Sordelli		Wylor		Db.	Hecht	Kahn G	Kahn P	M. K. R. ll					M.T.R.	S-W.	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	$\frac{1}{2}$ 0	$\frac{1}{100}$	3 D	5 D					C	M	Cl	Cl _a	R				
1	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
2	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
3	++	++	++	++	0	0	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	0	
4	+	+	-	+	0	0	+	+	+	0	+	++	++	++	+	+	++	0	
5	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
6	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
7	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
8	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
9	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
10	-	+	-	-	0	0	++	+	+	++	+	++	+	-	+	++	+	0	
11	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
12	++	++	++	++	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	
13	-	-	-	-	0	0	++	-	+	+	+	++	+	-	+	-	++	0	
14	-	-	-	-	0	0	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	0	
15	-	-	-	-	0	0	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	0	
16	+	++	+	+	0	0	++	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	0	
17	-	-	-	-	0	0	-	ac	-	-	-	-	-	-	-	-	++	0	
18	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
19	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
20	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
21	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
22	-	++	-	+	0	0	++	ac	+	++	+	++	++	-	+	++	++	0	
23	-	-	-	-	0	0	+	ac	-	+	-	++	-	-	-	++	++	0	
24	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
25	-	-	-	-	0	0	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
26	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
27	++	++	+	++	0	0	++	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	0	
28	-	-	-	-	0	0	-	-	+	+	+	++	++	-	+	++	+	0	
29	++	++	-	-	0	0	++	++	+	++	+	+	-	-	+	++	++	0	
30	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
31	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
32	-	-	-	-	0	0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
33	+	-	-	-	0	0	-	-	-	+	-	-	-	-	0	0	+	0	
34	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
35	+	++	-	-	0	0	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	
36	-	-	-	-	0	0	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	0	
37	-	-	-	-	0	0	-	-	0	0	-	-	-	-	0	-	-	0	
38	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
39	-	-	-	-	0	0	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	0	
40	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
41	-	-	-	+	0	0	-	-	+	+	+	+	+	-	+	0	+	0	
42	+	++	++	++	0	0	0	0	0	+	+	++	++	+	++	0	++	0	
43	-	-	-	-	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	+	0	
44	+	+	+	+	0	0	+	++	++	+	+	++	+	-	++	++	++	0	
45	-	-	-	-	0	0	-	ac	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	
46	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	

TABLEAU I bis

D I A G N O S T I C											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub.	Canc.	Grav.	D I A G N O S T I C	
			t							Vitiligo	1
											2
•											3
										Balano-Posthite	4
			t								5
										Normal	6
										Normal	7
t										Ins. Cardiaque	8
											9
											10
	t										11
											12
	t										13
										Ptose Gastrique	14
	t										15
			t								16
					•						17
			t							Eczema	18
											19
			t								20
										Vitiligo	21
			•							Angine de Poitrine	22
					•						23
										Hémorragie Retinienne	24
										Hématurie	25
											26
				t						Rhumatisme A.A.	27
				t							28
t									•		29
										Normal	30
											31
										Normal	32
			t							Hémiplégie	33
				•							34
										Aortite	35
											36
										Normal	37
			t								38
											39
	t										40
											41
•											42
										Rhumatisme A.A.	43
											44
	t									Malaria	45
											46
			t								

TABLEAU II

N°	R - B - W						R S-F	Réactions de Floculation											
	Demanche		Sordelli		Wylor		Db.	Hecht	Kahn S	Kahn P	M. K. R. ll					M.T.R.	S-W	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	$\frac{1}{2}$ 0	$\frac{1}{100}$	3 D	5 D					C	M	Cln	Clg	R				
47	++	++	++	++	0	0	0	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++	0
48	+	+	+	+	0	0	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	0
49	+	+	+	+	0	0	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	0
50	+	+	+	+	0	0	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	0
51	-	-	-	-	0	0	-	ac	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	0
52	++	++	++	++	0	0	+	++	+	++	++	++	++	+	++	+	++	++	0
53	-	-	-	-	0	0	+	+	+	++	+	+	+	+	++	+	++	++	0
54	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	++	+	++	++	0
55	-	-	-	-	0	0	-	0	-	+	-	-	-	+	-	-	0	0	0
56	-	-	-	-	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
57	+	+	-	-	0	0	+	0	+	+	-	-	-	-	-	0	0	0	0
58	+	+	-	-	0	0	-	0	-	+	-	-	-	-	-	0	0	0	0
59	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	+	-	-	-	+	+	+	+	0
60	++	++	++	++	0	0	++	++	0	++	+	+	+	-	++	++	++	+	12
61	-	+	-	-	0	0	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	0
62	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
63	-	-	-	-	0	0	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	0
64	+	+	-	-	0	0	++	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	++	0
65	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
66	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
67	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
68	++	++	++	++	0	0	++	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	0
69	-	-	-	+	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
70	++	++	++	++	0	0	++	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	0
71	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
72	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
73	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
75	-	-	-	+	-	-	+	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	+	0
76	-	-	-	-	-	-	+	-	+	++	+	-	-	-	-	-	-	+	0
77	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
78	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
79	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
81	+	++	-	+	-	-	+	-	++	++	++	++	+	-	+	-	++	++	0
82	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
83	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
84	-	-	-	-	0	0	+	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
85	-	-	++	++	++	++	++	0	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	0
86	++	++	++	++	-	-	+	-	+	++	++	++	+	++	+	-	+	+	0
87	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	0
88	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	0
89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
91	+	++	-	+	-	-	0	+	+	++	+	+	-	-	+	-	+	+	0
92	+	++	+	+	-	-	0	-	+	++	+	+	-	-	+	-	+	+	0

TABLEAU II bis

D I A G N O S T I C											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub.	Canc.	Grav.	D I A G N O S T I C	
		•	• t • t							Erythème Polymorphe	47
			• t								48
			• t							Diplopie	49
			• •								50
			• •								51
		t	• •								52
t		•	•								53
	t		•								54
	t		•								55
	t		•								56
			• t							Décollement de la rétine	57
			• t	•							58
			•								59
			•					•		Cancer de la langue	60
	t		•								61
			• •								62
			• •								63
			• t							Hypertension artérielle	64
			• t							Aortite	65
			• t								66
•			• t								67
			• t							Normal	68
t			• t								69
•			• t								70
			• t							Herpès	71
t			• t	•						Diabète	72
			• t								73
			• t								74
			• t								75
			• t								76
			• t								77
			• t								78
			• t								79
			• t							Mère du N°75	80
			• t								81
		•	• t							Goitre	82
			• t								83
	•		• t							Normal	84
	•		• t								85
			• t								86
			• t	•							87
			• t							Herpès	88
	t		• t		t						89
			• t								90
		t	• t								91
			• t								92

TABLEAU III

N°	R - B - W							R S-P	Réactions de Floculation											
	Demanche		Sordelli		Wylor				Hecht	Kahn S	Kahn P	M. K. R. 11					M.T.R.	S-W	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	$\frac{1}{2}$ O	$\frac{1}{100}$	3 D	5 D	Db.					C	M	Cln	Cla	R				
93	-	-	-	-	-	-	0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
94	++	++	++	++	++	++	0	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	0
95	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
96	+	+	+	+	+	-	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
97	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
98	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
99	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
100	-	-	-	-	-	-	0	-	+	+	+	0	0	0	0	0	-	-	0	0
101	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
102	-	-	-	-	-	-	0	-	+	+	+	0	0	0	0	0	-	-	0	0
103	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0	0	0	0	0	-	-	0	0
104	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0	0	0	0	0	-	-	0	0
105	-	-	-	-	-	-	0	-	-	+	+	0	0	0	0	0	-	-	0	0
106	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	-	-	0	0
107	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	0
108	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
109	+	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	0
110	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	0
111	+	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	0
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
113	0	0	0	0	0	0	0	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0
114	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
115	0	0	0	0	0	0	0	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
116	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
117	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
118	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
119	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0
120	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
124	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	0
125	+	++	+	++	++	+	+	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
126	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	0
128	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
129	+	++	+	+	+	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
130	-	+	-	-	+	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
131	-	+	-	-	+	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
132	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	0
133	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0
134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
135	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
136	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
137	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	0
138	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	0

TABLEAU III *bis*

D I A G N O S T I C											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub.	Canc	Grav	D I A G N O S T I C	
	• t						• t				93
		• t • t									94
									•		95
											96
											97
									• • • •		98
											99
							• • • •				100
											101
											102
											103
											104
											105
											106
	• t										107
• t • t										Dilatation des Bronches	108
											109
	• t					• t					110
											111
		• t •									112
											113
											114
			•							Normal	115
						• t					116
											117
										Normal	118
			•							Sciatique Rebelle	119
• t											120
										Normal	121
											122
										Normal	123
			• t								124
											125
	•									Ulcère de l'estomac	126
										Ictère	127
											128
• •										Néphrite aigue	129
											130
											131
											132
									•		133
										Mal de Pott	134
										Albuminurie + Urémie	135
									• •		136
											137
										Broncho-pneumonie	138

TABLEAU IV

N°	R - B - W							R S-F	Réactions de Floculation										
	Demanche		Sordelli		Wylor		Db.	Hecht	Kahn S	Kahn P	M. K. R. 11					M.T.R.	S-W	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	1 20	1 100	3 D	5 D					C	M	Cln	Cla	R				
139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
140	++	++	-	+	++	-	++	0	++	++	++	++	++	+	++	++	+	++	
141	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	
145	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
146	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
147	+	++	++	++	-	-	++	++	++	++	++	++	+	-	+	+	++	-	
148	+	++	0	0	++	++	++	++	++	0	++	++	++	+	++	0	++	0	
149	+	++	++	++	0	0	++	-	++	++	++	++	+	+	++	++	+	5	
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-	-	
151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	
152	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	0	-	-	
153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
154	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
155	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
157	-	-	-	+	-	-	++	-	++	++	++	++	++	+	++	++	++	-	
158	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
159	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
161	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
162	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
163	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
164	++	++	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	4	
165	+	++	0	0	0	0	0	-	-	+	+	+	+	+	+	0	+	-	
166	+	++	0	0	0	0	0	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	61	
167	++	++	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	50	
168	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
169	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
171	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
173	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
174	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
175	++	++	++	++	++	++	++	0	+	++	++	++	++	++	++	++	++	12	
176	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
177	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
178	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
179	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
181	ac	ac	ac	ac	ac	ac	ac	ac	-	+	++	-	-	-	-	-	+	-	
182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	
183	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
184	-	-	-	-	+	-	0	-	+	++	+	++	++	-	+	+	0	-	

TABLEAU IV *bis*[illegible]

TABLEAU V

N°	R - B - W						R S-F	Réactions de Flocculation											
	Demanche		Sordelli	Wyler		Db.		Hecht	Kahn S	Kahn P	M. K. R. 11					M.T.R.	S-W	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{100}$	3 D						5 D	C	M	Cl _n	Cl _a				
185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
186	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
187	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
188	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	21	
189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
190	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
192	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
193	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
195	+	++	-	-	-	+	0	+	++	+	++	+	+	-	+	+	++	++	
196	++	++	++	++	++	++	0	++	++	0	0	0	0	0	++	++	++	14	
197	+	++	-	-	-	++	0	+	++	++	++	++	++	+	++	-	++	4	
198	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
200	+	++	-	+	++	++	0	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	10	
201	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
202	-	+	-	+	-	++	-	+	++	++	+	+	-	+	+	+	+	4	
203	++	++	++	++	++	++	-	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	23	
204	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
205	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
206	-	+	0	0	0	0	0	+	0	++	++	++	+	++	++	0	++	0	
207	+	++	0	0	+	0	ac	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	0	
208	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	
209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	-	-	+	++	++	-	
210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
211	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
212	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	++	+	-	
213	-	++	-	+	+	++	0	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	-	
214	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
215	+	++	-	+	++	++	++	++	++	+	+	+	-	+	++	+	+	0	
216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	++	++	-	
217	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
218	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
219	++	++	++	++	++	++	0	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	15	
220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
221	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
223	-	-	++	++	+	+	-	+	+	++	++	+	-	+	++	+	+	-	
224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
225	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
226	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
227	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
228	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
229	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

TABLEAU V *bis*[illegible]

TABLEAU VI

N°	R - B - W							R S-F	Réactions de Flocculation										
	Demanche		Sordelli		Wylor		Db.	Hecht	Kahn S	Kahn P.	M. K. R. 11					M.T.R.	S-W	M.B.R.	Vernes
	As	Ach	1	1	3 D	5 D					C	M	Cln	Cla	R				
			20	100															
231	-	+	-	-	++	++	+	+	+	++	++	++	+	++	+	++	++	5	
232	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
233	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	++	-	
234	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
235	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	70	
236	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	
237	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	40	
238	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0	-	
239	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
240	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	
241	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
242	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
243	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	
244	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
245	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	+	-	+	-	-	-	
246	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	49	
247	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	-	+	++	+	+	++	++	0	
248	+	+	-	+	-	-	0	0	++	++	+	++	++	++	++	++	++	0	
249	+	+	-	-	++	++	-	0	+	++	+	+	+	+	+	++	++	0	
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
251	-	-	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
252	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
253	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
254	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
255	-	-	-	-	-	-	-	0	+	+	+	+	+	+	-	++	-	-	
256	++	++	+	++	+	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	14	
257	-	-	ac	ac	-	-	-	0	+	+	+	-	-	-	-	+	+	0	
258	+	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	44	
259	+	+	-	-	-	-	-	0	+	++	++	++	+	-	+	++	+	0	
260	-	+	-	-	-	-	-	0	-	+	+	+	-	+	-	+	+	0	
261	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
262	-	-	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
263	-	-	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
264	-	-	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
265	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
266	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
267	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	++	-	-	-	
268	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
269	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
270	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
271	-	-	+	+	-	-	-	-	-	++	+	+	+	-	+	-	+	-	
272	-	-	ac	ac	-	-	-	ac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
273	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
274	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	+	-	+	-	-	-	
275	-	-	-	-	-	-	-	ac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
276	-	-	-	-	-	-	-	ac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

TABLEAU VI *bis*

D I A G N O S T I C											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G	Tub.	Canc	Grav	D I A G N O S T I C	
			t t						•	Insuffisance mitrale	231
											232
											233
											234
											235
											236
	•										237
										Hémiplégie	238
										Néphrite chronique	239
										Sclérose pulmonaire	240
				t							241
											242
										Arythmie complete	243
										Colique hépatique	244
										Cirrhose	245
	•										246
			•							Sciaticque droite	247
		•									248
										Hémiplégie	249
										Aortite	250
											251
										Maladie d'Adisson	252
										Psoriasis	253
										Sciaticque	254
										Aliénation mentale (S)	255
											256
			• • •							Cirrhose avec ictère	257
											258
											259
											260
										Normal	261
										"	262
										"	263
										"	264
										"	265
			(S)							Normal	266
										Syndrome pluriglandulaire	267
										Normal	268
								•		Du pancreas avec ictère	269
										Cirrhose	270
			•						•		271
								•		Secondaire du foie	272
									•		273
									•		274
									•		275
									•		276

TABLEAU VII

N°	R - E - W						R S-F	Réactions de Flocculation											
	Demanche		Sordelli		Wylor		Db.	Hecht	Kahn S	Kahn P	M. K. R. 11					M.T.R.	S-W	M.B.R	Vernes
	As	Ach	1/20	1/100	3 D	5 D					C	M	Cl _n	Cl _a	R				
277	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
278	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
279	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
280	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
281	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
282	-	-	++	++	0	0	+	-	+	++	+	+	+	-	+	-	+	-	
283	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	62	
284	+	+	++	++	++	++	++	++	+	++	0	0	0	0	0	0	0	45	
285	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	20	
286	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	
287	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
288	+	++	++	++	++	++	0	-	+	++	++	++	++	+	++	++	++	48	
289	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
290	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
291	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
292	++	++	0	0	+	+	0	++	++	0	++	++	++	++	++	0	++	76	
293	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	++	++	++	-	+	+	++	-	
294	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	++	-	
295	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
296	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
297	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	
298	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
299	-	+	++	++	++	+	0	0	+	++	+	++	-	-	+	++	++	-	
300	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
301	++	++	++	++	++	++	+	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++	110	
302	+	+	+	+	-	-	-	-	+	++	+	++	+	-	+	+	+	-	
303	+	++	++	++	+	+	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	9	
304	-	-	-	+	-	-	+	-	+	++	++	++	++	+	++	+	+	-	
305	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	45	
306	-	-	-	+	+	-	+	+	+	++	++	++	+	-	+	-	++	-	
307	+	++	0	0	+	-	++	++	++	++	+	++	++	-	+	-	++	12	
308	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	15	
309	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	-	
310	-	-	0	0	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
311	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
312	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	60	
313	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	120	
314	+	+	-	-	+	-	-	+	+	++	-	++	++	-	+	-	+	0	
315	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	33	
316	++	++	++	++	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	35	
317	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
318	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
319	-	+	+	+	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	10	
320	+	++	+	+	-	-	++	+	++	++	++	++	++	+	++	-	+	10	
321	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	
322	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

TABLEAU VII bis

D I A G N O S T I S											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub	Canc	Grav	D I A G N O S T I C	
			t t								

TABLEAU VIII

[illegible]

TABLEAU VIII *bis*

D I A G N O S T I C										N°	
Sujets Syphilitiques					Sujets non Syphilitiques						
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub.	Canc.	Grav.	D I A G N O S T I C	
			t							Hypertension artérielle	323
										Névrалgie faciale	324
										Hypertension artérielle	325
										"	326
										Prostituée (S)	327
										" (S)	328
											329
										Neurasthénie	330
										Blennorrhagie	331
											332
											333
										Polyarthrite blennorragique	334
										Lithiase rénale	335
										Diabète	336
										Adenopathie tuberculose	337
										Normal	338
										Acromégalie	339
										Compression médullaire	340
										Normal	341
										Albuminurie	342
										Diabète	343
										Rhumatisme A.A.	344
										Diabète	345
										Bronchite chronique	346
											347
											348
										Athèrome	349
											350
											351
											352
										Normal	353
										Diabète + Hémiplegie	354
										Goutte	355
										Bronchite aiguë	356
										Néphrite aiguë	357
											358
											359
											360
											361
											362
											363
											364
											365
											366
										Cirrhose	367
										Ictère	368
										Cirrhose	369

TABLEAU IX

[illegible]

TABLEAU IX *bis*

D I A G N O S T I C											N°
Sujets Syphilitiques						Sujets non Syphilitiques					
I	II	III	L	H	Tabes	P.G.	Tub.	Canc.	Grav.	D I A G N O S T I C	
			t							Psoriasis Epilepsie Absès sous phrenique	370 371 372 373 374
										Chorio-Rétinite Asystolie Kyste hydatique du foie Chancre mou	375 376 377 378 379
			t								380
										Intoxication Fougère male Syndrome de la queue de /cheval	381 382 383 384
											385
											386
											387
											388
											389
											390
											391
											392
										Chancre mou	393 394
										Appendicite chronique Blennorrhagie	395 396 397 398 399
			t								400
											401
											402
											403
											404
											405
										Diabète Vitiligo Normal	406 407 408 409
											410
											411
											412
											413
											414
										Normal	415 416

II. — TABLEAUX DONNANT UN RÉSUMÉ DES RÉSULTATS OBTENUS PAR LA COM- PARAISON DES DIVERSES MÉTHODES SÉ- ROLOGIQUES.

TABLEAU X

CAS DE SYPHILIS NON TRAITÉS

Méthodes	N° de Réacts.	Nombre de réactions					+ et ++ p. 100
		a.c.	-	±	+	++	
B-W. Demanche As	82	0	25	7	15	35	61,-
■ Ach	82	0	18	3	8	53	74,4
■ Sordelli 1/20	76	0	29	2	7	38	59,2
■ 1/100	76	0	19	2	15	40	72,4
■ Wyler 3 MDH	61	0	14	7	10	30	65,6
■ 5 MDH	61	0	30	1	8	22	49,2
■ Debains	72	0	16	4	13	39	72,2
S-F. Hecht	75	3	23	1	5	43	64,-
F.- Kahn Standard	82	-	10	5	22	45	81,7
■ Presomp.	83	-	3	3	11	66	92,8
■ M.K.R. 11 C	83	-	11	4	14	54	81,9
■ M	83	-	7	2	12	62	89,2
■ Cln	83	-	13	1	14	55	83,1
■ Cla	83	-	33	5	13	32	54,2
■ R	83	-	7	4	20	52	86,7
■ M.T.R. 111	82	-	24	0	8	50	70,7
■ Sachs-Witebsky	81	-	12	1	16	52	84,-
■ M.B.R. 11	81	-	9	1	10	61	87,7
■ Vernes	55	-	19	4	10	22	58,2

TABLEAU XI

CAS DE SYPHILIS TRAITÉS

Méthodes	N° de Réacts	Nombre de réactions					+ et ++
		a.c.	-	±	+	++	p. 100
B-W. Demanche As	106	0	64	12	18	11	28,3
" " Ach	106	0	56	4	17	29	43,3
" Sordelli 1/20	100	0	70	1	13	16	29,
" " 1/100	100	0	59	3	20	18	38,
" Wyler 3 MDH	73	0	48	1	8	16	32,9
" " 5 MDH	73	0	54	1	3	15	24,7
" Debains	92	0	48	3	15	26	44,7
S-F. Hecht	100	1	69	0	6	24	30,-
F. Kahn Standard	108	-	45	9	21	33	50,-
" " Presomp.	106	-	39	5	19	43	58,5
" M.K.R. 11 C	106	-	48	11	18	29	44,3
" " M	106	-	47	3	23	33	52,8
" " Cln	106	-	54	3	24	25	46,2
" " Cla	106	-	81	4	12	9	19,8
" " R	106	-	47	6	27	26	50,-
" M.T.R. 111	103	-	75	0	5	23	27,2
" Sachs-Witebsky	103	-	55	4	11	33	42,7
" M.B.R. 11	103	-	43	10	21	29	48,5
" Vernes	48	-	27	4	13	4	35,4

TABLEAU XII

CAS NON SYPHYLITIQUES

Méthodes	N° de Réacts	Nombre de réactions					+ et ++
		a.c.	-	±	+	++	p.100
B-W. Demanche As	143	1	140	2	0	0	0,-
" " Ach	143	1	139	2	0	1	0,7
" Sordelli 1/20	142	3	138	1	0	0	0,-
" " 1/100	142	3	138	0	1	0	0,7
" Wyler 3 MDH	123	1	118	3	1	0	0,8
" " 5 MDH	123	1	121	1	0	0	0,-
" Debains	140	1	134	4	1	0	0,7
S-F. Hecht	140	6	128	2	4	0	2,8
F. Kahn Standard	142	-	134	2	6	0	4,2
" " Presomp	141	-	120	2	16	3	13,5
" M.K.R. 11 C	137	-	123	2	9	3	8,8
" " M	137	-	124	3	7	3	7,3
" " Cln	137	-	127	2	7	1	5,8
" " Cla	137	-	135	1	1	0	0,7
" " R	137	-	124	5	8	0	5,8
" M.T.R. 111	140	-	137	0	2	1	2,1
" Sachs-Witebsky	139	-	122	3	9	5	10,-
" M.B.R. 11	136	-	105	10	15	6	15,4
" Vernes	109	-	109	0	0	0	0,-

TABLEAU XIII

CAS DE FEMMES GRAVIDES

(non syphilitiques)

Méthodes	N° de Réacts.	Nombre de réactions					+ et ++ p. 100
		a.c.	-	±	+	++	
B-W. Demanche As	39	0	39	0	0	0	0,-
" " Ach	39	0	38	1	0	0	0,-
" " Sordelli 1/20	39	0	39	0	0	0	0,-
" " 1/100	39	0	39	0	0	0	0,-
" " Wyler 3 MDH	40	0	39	1	0	0	0,-
" " 5 MDH	40	0	40	0	0	0	0,-
" " Debains	36	0	36	0	0	0	0,-
S-F. Hecht	40	2	38	0	0	0	0,-
F. Kahn Standard	40	-	40	0	0	0	0,-
" " Presomp.	40	-	38	0	1	1	5,-
" " M.K.R. 11 C	40	-	39	0	0	1	2,5
" " " M	40	-	40	0	0	0	0,-
" " " Cln	40	-	39	0	1	0	2,5
" " " Cla	40	-	40	0	0	0	0,-
" " " R	40	-	39	1	0	0	0,-
" " M.T.R. 111	40	-	40	0	0	0	0,-
" " Sachs-Witebsky	40	-	40	0	0	0	0,-
" " M.B.R. 11	40	-	31	1	6	2	20,-
" " Vernes	36	-	36	0	0	0	0,-

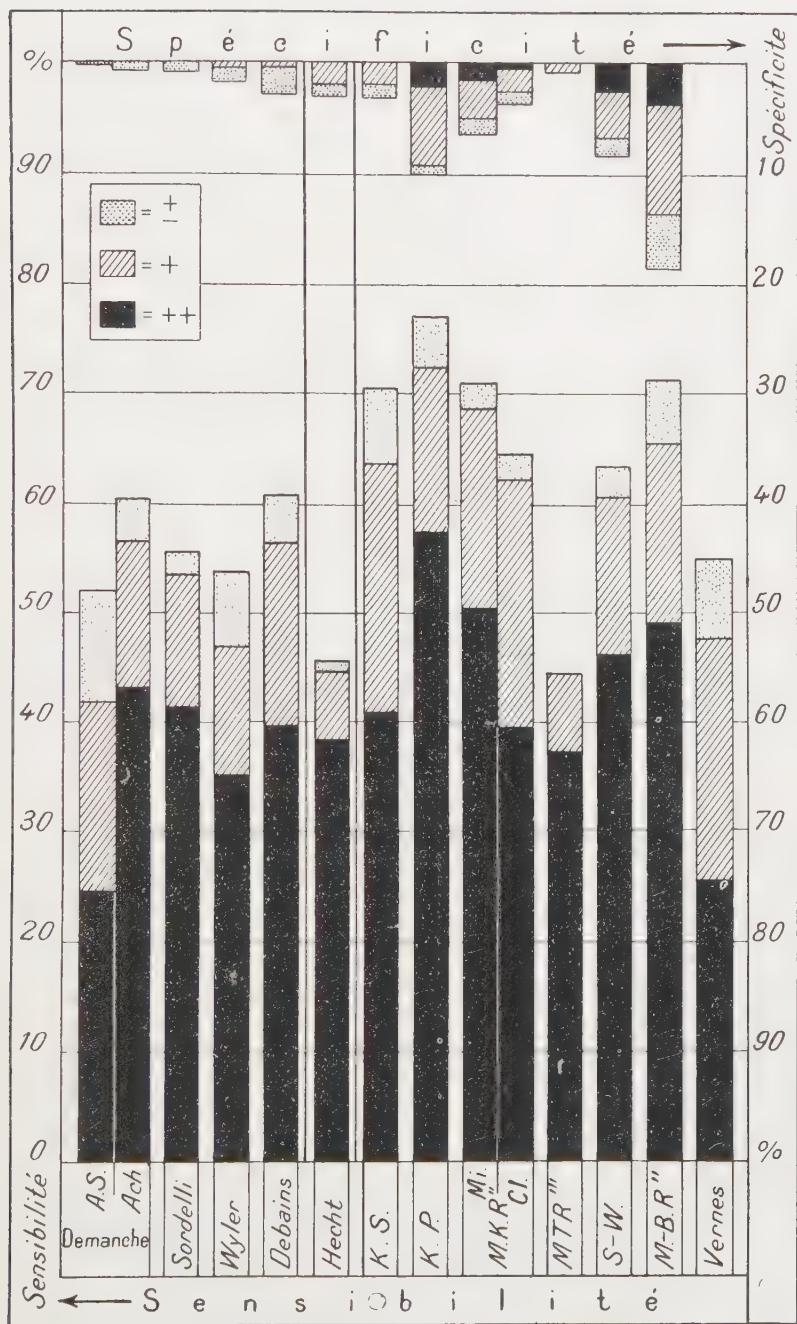
TABLEAU XIV

CAS DE SUJETS NORMAUX

(donneurs de sang)

Méthodes	N° de Réacts.	Nombre de réactions				
		a.c.	-	±	+	++
B-W. Demanche As	30	0	30	0	0	0
" " Ach	30	0	30	0	0	0
" " Sordelli 1/20	27	0	27	0	0	0
" " 1/100	27	0	26	1	0	0
" " Wyler 3 MDH	19	0	19	0	0	0
" " 5 MDH	19	0	19	0	0	0
" " Debains	25	0	25	0	0	0
S-F. Hecht	32	0	32	0	0	0
F. Kahn Standard	30	-	30	0	0	0
" " Presomp.	31	-	31	0	0	0
" " M. K. R. 11 C	32	-	31	1	0	0
" " " M	32	-	32	0	0	0
" " " Cln	32	-	32	0	0	0
" " " Cla	32	-	32	0	0	0
" " " R	32	-	32	0	0	0
" " M.T.R. 111	31	-	31	0	0	0
" " Sachs-Witebsky	31	-	31	0	0	0
" " M.B.R. 11	32	-	32	0	0	0
" " Vernes	20	-	20	0	0	0

PLANCHE I



CONCLUSIONS

I. — Les réactions de BORDET-WASSERMANN par les méthodes de SORDELLI-MIRAVENT et de WYLER nous ont donné des résultats absolument *spécifiques*.

II. — Les réactions de BORDET-WASSERMANN par les récentes méthodes de DEMANCHE et de DEBAINS se sont montrées aussi *spécifiques* que les deux précédentes, tout en étant d'une exécution beaucoup plus simple.

III. — Ces différentes méthodes de BORDET-WASSERMANN ont pu être classées d'après leur *sensibilité* : 1^o DEBAINS ; 2^o DEMANCHE ; (Antigène cholesteriné) ; 3^o SORDELLI-MIRAVENT ; 4^o WYLER ; 5^o DEMANCHE (Antigène simple).

IV. — La réaction au sérum frais type HECHT-MUTTERMILCH, s'est montrée au point de vue de la *sensibilité* égale à la réaction de WYLER et à celle de DEMANCHE pratiquée avec l'antigène simple, mais elle a été inférieure à cette dernière réaction

pratiquée avec l'antigène cholesteriné et aux réactions de SORDELLI-MIRAVENT et de DEBAINS. Elle présente un très faible coefficient de *non spécificité* (1,9 %).

V. — Les réactions d'hémolyse (sérum chauffé et sérum frais) se sont avérées moins sensibles que les réactions de floculation : KAHN-Standard ; KAHN-Présomption, MEINICKE Clarification ; SACHS-WITEBSKY, MULLER.

VI. — Les réactions de floculation se sont classées par ordre de *sensibilité* décroissante : 1^o KAHN, Présomption, 2^o M. K. R. II (lecture microscopique), 3^o MÜLLER ; 4^o KAHN, Standard ; 5^o M. K. R. II (Clarification) ; 6^o SACHS-WITEBSKY ; 7^o VERNES ; 8^o MEINICKE, Opacification (M. T. R. III).

VII. — Parmi les réactions de floculation : celles de MULLER, KAHN présomption, M. K. R. II (lecture par centrifugation) et SACHS-WITEBSKY ont donné un coefficient assez important de *non spécificité* variant entre 6% et 15%.

VIII. — Les réactions de KAHN Standard et la M. K. R. II (micro-réaction et clarification) nous ont donné un faible coefficient de *non spécificité*, (2% à 4,5 %).

IX. — Les méthodes de VERNES et MEINICKE

opacification (M. T. R. III) se sont montrées absolument *spécifiques* et nous ont donné en moyenne une sensibilité équivalente aux réactions de HECHT, WYLER et à la réaction de DEMANCHE avec l'antigène simple, mais inférieur aux réactions de DEBAINS, SORDELLI-MIRAVENT et à la réaction cholestérinée de DEMANCHE.

X. — Il résulte des constatations précédentes, que les réactions de floculation possèdent une supériorité au point de vue de la sensibilité sur les méthodes de fixation du complément, mais qu'elles sont moins spécifiques que ces dernières. D'ailleurs en sérologie il n'existe pas de supériorité absolue et nous avons eu l'occasion d'observer que les réactions de floculation se sont trouvées en défaut avec certains sérums qui nous ont donné cependant, des résultats positifs par les méthodes de fixation du complément.

Il est donc indispensable de pratiquer simultanément ces deux sortes de méthodes.

XI. — Parmi les réactions de floculation elles-mêmes ce ne sont pas toujours les plus sensibles qui donnent les meilleurs résultats avec tous les sérums.

Il est nécessaire de faire, par précaution, plusieurs réactions de floculation.

Nous terminerons donc ce travail par les conclusions générales suivantes :

a) *Le diagnostic de la syphilis, par l'examen du sérum sanguin, ne doit jamais être fait au moyen d'une méthode unique. Il doit toujours reposer sur un ensemble de réactions et nous recommandons la triade : Bordet-Wassermann par la méthode Debains ou par la méthode de Demanche ; Kahn Standard ; et la M. K. R. II.*

b) *Etant donné que toutes ces réactions n'ont pas de valeur absolue, chaque fois qu'il y a contradiction entre les données de la sérologie et celles de la clinique, ce sont toujours ces dernières qui doivent prévaloir.*

VU : le Doyen,
ROUSSY

VU : le Président de la thèse,
GOUGEROT

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

- ARROYO AVILA (A.). — Estudio comparativo de las reacciones de Kahn, Meinicke y Muller para el suero-diagnostico de la sífilis (*Salubridad*. I : 647 juillet-septembre 1930).
- AGASSE-LAFONT (E.). — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique (4^e édition, Vigot Frères, Edit.).
- BLASIO (R. de.). — La réaction de Sachs Witebsky dans le diagnostic de la syphilis (*Bulletin de la Société française de dermatologie et de syphiligraphie*, 1181-1186, juillet 1931).
- BOQUET (A.). — Voir A. CALMETTE.
- CALMETTE (A.) BOQUET (A.) et NEGRE (L.). — Manuel technique de microbiologie et sérologie (Masson édit. 1933).
- CORMIO (A.). — Sulla reazione di flocculazione di Sachs Witebsky (citochol) (*Gior. di batteriol. e Immunol.* 8 : 1-8 janvier 1932).
- DEBAINS (E.). — État actuel de la sérologie de la syphilis (*Presse médicale*, 21 septembre 1932, N° 76).
- La réaction de clarification de Meinicke (M. K. R. II) Publiée par les Établissements Leune, 28 bis rue du Cardinal Lemoine, Paris.
- La réaction de Kahn, publié par les Établissements Leune, 2 bis rue du Cardinal Lemoine, Paris.
- La réaction de Bordet Wassermann id. et communication faite à la *Société française de Sérologie et de Syphilis Expérimentale*, le 9 mars 1933.
- DEMANCHE (R.). — Technique de la réaction de Kahn (*Journal de Pharmacie et de Chimie*, N° 6, tome XIV, 8^e série page 243 (le 16 septembre 1931)).

- Les réactions sérologiques de la syphilis (Extrait du *traité de la syphilis* t. XI, G. Doin Edit., Paris 1931).
- Réactions de floculations de la syphilis (*Presse médicale* n° 27, du 5 avril 1933).
- Rapport à la Société de Sérologie et syphilis expérimentale 8 novembre 1934 (*Presse médicale* n°, 100, 15 déc. 1934, page 2025).
- Précis de technique du séro-diagnostic de la syphilis (G. Doin, Edit., Paris, 1928).
- Les récents progrès de la R. de B. W. (*Presse Médicale*, n° 3, 10 janvier 1934).
- Les réactions de floculations et le séro-diagnostic de la syphilis (*Bulletin Médical*, 30 janvier 1932).
- Deux nouvelles réactions de floculations pour séro-diagnostic de la syphilis : Réactions de Müller et réaction de Meinicke (*Presse médicale*, 8 février 1930).
- Principes directeurs de la réaction de B. W. (*Diagnostica e tecnica di laboratorio*, Naples, n° 4, avril 1935).
- DEVAL (L.). — Réactions de floculation et diagnostic de la syphilis (*Revue méd. franc.*, octobre 1933, p. 667-672).
- FITTIPALDI (C.). — Recherche sperimentali sulla reazione citochol de Sachs Witebsky e proposta di modifiche alla tecnica originale (*Gior. di batteriol e Immunol*, 10 : 493-503, mars 1933).
- HECHT (H.). — Eine verbesserte Technik der Sororaaktion mit Aktiven siren bei Syphilis *Klin, Wochens* ch 52 (12 nov. 1926).
- HOMBRIA (M.). — Contribucion al estudio de la reaccion de aclaramiento de Meinicke (*Arch. de med. eir y espec*, 33 : 445-449 (del 15 nov. 1930).
- JEANSELME (ED.). — *Traité de la syphilis* (G. Doin Edit., Paris 1931).
- KAHN (R. L.). — *A pratical guide* (Williams and Wilkins, Baltimore 1928).
- *Serum diacnostic of syphilis by precipitation* (Williams and Wilkins, Baltimore).
- C. R. du rapport de la conférence sur le serodiagnostic de la syphilis convoquée à Montivedeo 15-26 septembre 1930. Série de publication de la S. D. N. à Genève.

- Démonstration of the Kahn tert (*New York State Journ. of medicine*, 1926, XXVI, p. 557).
- LEVY (D. G.). — Considerations sur la R. B. W. (*Thèse de Paris*, 1932).
- LEVIN (J.). — La réaction de conglomération de Müller, son application au diagnostic de la syphilis (*Thèse de Paris*, 1932).
- LEVY (G.). — Le séro-diagnostic de la syphilis. Valeur comparée des réactions d'hémolyse et des réactions de floculations (*Prat. Méd. franc.* 11, 393-396, août 1930).
- MEINICKE (E.). — «La réaction d'éclaircissement (M. K. R.)» (*Annales de l'Institut Pasteur*, p. 753, 1932).
- Die M. K. R. als Mikro Schnellreaktion für inaktivierte Sera. (*Klin Wochenschr.* 6 déc. 1930).
- Rapport à la Société de sérologie et syphilis expérimentale (5 nov. 1934), p. 2025).
- Rapport à la Société de sérologie et syphilis expérimentale (5 nov. 1934). (*Presse médicale* n° 100 du 15 décembre 1934, p. 2025).
- MIRAVEN (J. M.) y SORDELLI (A.). — Tecnicas de las reaciones de B. W. y de Kahn. (Voir A. Sordelli).
- MÜLLER (R.). — C. R. du rapport de la conférence sur le sero-diagnostic de la syphilis convoquée à Montevideo 15-26 septembre 1930. (Série de publication de la S. D. N. à Genève).
- Ballungsreaktion (conglobation) mit luetischer Serie (*Arch. f. Dermatol u. syphil.* Berlin 1926, CLI, p. 231-236).
- Ballungsreaktion (Conglobation) mit luetischer Serie (*Arch. f. Dermat.*, 1927, t. CLI p. 231).
- Le réactif d'agglomération 11 Schering (*Schering-Kahlbaum*, A. G. Berlin).
- Verlauf der Ballungsreaktion im Kinematogramm (*Wiener med. Woch.*, LXXVII, 1927, 18 juin, p. 850).
- Die Stellung der Hechtschen Reaktion H. F. V.) und meiner Ballungsreaktion (M. B. R.) im Entwicklungsgang der Flockungsreaktionen bei Lues Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Jena 1926, XLVIII p. 517-552).
- Erfahrungen mit der R. Mullerschen Ballungsreaktion bei der Serodiagnostik der Lues. (*Mediz. Klinik*, XXIV, 1928, 24 fév., p. 294).

- Fortschritte in der Serodiagnostik der Syphilis (*Wiener Med. Woch.*, LXXVIII, 1928, 18 fév., p. 243, 23 fév, p. 287).
- Vereinfachte Methodik der Ballungsreaktion (M. B. R. 11) (*Deutsch. med. Woch.*, 35 : 1624-1625, 27 septembre 1929).
- Ueber die vereinfachte Ballungsreaktion (M. B. R.) und ihre Beschleunigung durch die Zentrifugiermethodik (*Med. Klin.*, 26 : 1193, 8 août 1930).
- La reaccion de aglomeracion 11 (M. B. R. 11 Ballung reagen' (*Bol. d. Cons. nac. de hig.*, 25 : 371-377, sept-oct. 1930).
- Erfahrungen mit einer vereinfachten Méthodik meiner Ballungsreaktion (M. B. R. 11)+ (*Arch. Dermat. u syphil.*, 160 : 213-215, 1930).
- RUBINSTEIN (M.). — Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic (Maloine, Edit., 1932).
- RUBINSTEIN (M.) et GAURA. — Procédés de flocculation (Technique de Kahn) (*Bull. Soc. Franc. de Dermat. et Syph.*, 1924, op. 218).
- RUBINSTEIN (M.) et SUAREZ (L.). — Procédés rapides de flocculation directe (Meinicke et Kahn) (*Bull. Soc. franc. de Dermat. et Syph.*, 1926, t. XXXIII, p. 199-203).
- RONZINI (M.). — Il Valore clinico della reazione citochol per la sifilide (*Policlinico sez prat.*, 31 octobre 1932).
- SORDELLI (A.) y MIRAVENT (J. M.). — Técnicas de las reacciones de B. W. y de Kahn (*Rép. Argentina, Mayo*, 1931).
- C. R. du rapport de la conférence sur le sérodiagnostic de la syphilis convoquée à Montivedeo (Série de publications de la S. D. N. Genève).
- SZWOJNICKA. — La réaction au citochol dans le serodiagnostic de la syphilis (*C. R. de la Soc. de Biologie*, 107, 299-300, 3 juin 1931).
- WITEBSKY (E.) u SACHS. — Citochol-Reaktion (neue Modifikation) (*Klin. Woch.*, 1931, n° 43).
- WYLER (E. J.). — The Wassermann Test, Technical details of n° 1 methode M. R. C. (modified) (*Published by his Majesty's Stationery Office*, London, 1929).
- C. R. du rapport de la conférence sur le sérodiagnostic de la syphilis convoquée à Montivedeo, 1930 (Série de publications de la S. D. N. Genève).

VERNES (A.). — L'organisation de la syphilimétrie (fascicule 2), A. Maloine, édit, 1923.

— Les étapes de la syphilimétrie de 1909 à 1922) (Fascicule 1, 1922).

VERNES (A.) et BRICQ (R.). — Syphilimétrie. Note technique sur la réaction au péréthynol et au sérum de pore (*Bulletin des Sciences pharmacologiques*, t. XXVI, déc. 1919).

Saint-Amand (Cher), France. — Imprimerie R. BUSSIÈRE. — 8-11-1935.

